BAND 42, HEFT 2 AUGUST 1961

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. SCHAFFNIT

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. BALDACCI, Mailand / Prof. Dr. H. BRAUN, Bonn / Prof. Dr. W. B. BRIERLEY, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. HIRATSUKA, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. KÖHLER, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. MÜLLER, Canberra / Prof. Dr. T. S. SADASIVAN, Madras / Prof. Dr. TR. SAVULESCU, Bukarest / Prof. Dr. K. SILBERSCHMIDT, São Paulo / Prof. Dr. E. C. STAKMAN, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. GÄUMANN
Zürich

M. KLINKOWSKI
Aschersleben

H. RICHTER
Berlin-Dahlem

Mit 27 Abbildungen

1961
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 42 Heft 2 *S. 101—196 Berlin 1961*

Postverlagsort Berlin

INSP
RAM
COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
5 SEP 1961

INHALT

Abhandlungen

AGNIHOTRI, V. P., Studies on *Colletotrichum capsici*. II. Carbon and Nitrogen requirements. With 4 figures 101

COSTA, A. S., and A. M. B. CARVALHO, Studies on Brazilian Tobacco Streak. With 9 figures 113

KRÜGER, W., Die Konzentrationsbestimmung von Penicillin und Streptomycin in Tomatenpflanzen. Mit 3 Abb. 139

GERLACH, W., *Fusarium redolens* Wr., seine Morphologie und systematische Stellung. Ein Beitrag zur Kenntnis der *Elegans*-Fusarien. Mit 6 Abb. 150

ARX, J. VON, Über *Cylindrosporium padi* 161

NOVIELLO, C., A First Report of Powdery Mildew on Fennel in Italy. With 2 Figures 167

SILBERSCHMIDT, K., The Spontaneous Occurrence of Strains of Potato Virus X and Y in South America. With 3 figures 175

Kurze Mitteilung

HASSEBRAUK, K., Ein Beitrag zum Verhalten von Biotypen in Biotypengemischen von *Puccinia triticina* Erikss. (*P. recondita* Rob. ex Desm.) 193

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Theodor-Roemer-Weg 4, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber. Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen), Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang des letzten Heftes des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin und Hamburg, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69.
Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 25,40 DM **Einzelpreis 28,— DM**

From the Botany Department, University of Allahabad, India

Studies on *Colletotrichum capsici*. II. Carbon and Nitrogen requirements

By

V. P. AGNIHOTRI[1])

With 4 figures

Various species of *Colletotrichum* have been reported from different parts of the world and they are known to cause leaf spot or fruit rot diseases but so far detailed physiological studies have been undertaken on a few of them only. The importance of nutritional studies of fungi has fully been realised. NICKERSON and WILLIAMS (1937) have rightly pointed out that the knowledge of the nutrition of pathogenic fungi may throw light on the cause of their parasitic mode of life and further progress may then be made towards the specific treatment of prevention of the diseases caused by them.

It has long been established that carbon, nitrogen as well as a number of other elements are indispensable for the growth of fungi. BILGRAMI (1956) has given a summarized account of different sources of carbon and nitrogen on the growth and sporulation of various pathogenic fungi. A survey of literature shows that all the microorganisms do not grow equally well on any single source of carbon or nitrogen and the best source for any organism has to be determined.

A leaf spot disease of *Pothos scandens* caused by *Colletotrichum capsici* was found to be very common at Allahabad (TANDON and AGNIHOTRI 1960). It is responsible for severe damage to the leaves but so far it has not been reported on this host. It was, therefore, considered desirable to undertake physiological and pathological studies of the organism responsible for the disease. The results of carbon and nitrogen nutrition are presented in this paper.

Materials and methods

The fungus was isolated from the leaves of *Pothos scandens* (AGNIHOTRI 1958). Asthana and Hawker's medium 'A' containing 5 g glucose, 1.75 g KH_2PO_4, 0.75 g $MgSO_4\,7\,H_2O$, 3.5 g KNO_3 in 1000 ml water was used as the basal medium. In order to study the effect of various carbon

1) Present address: 331/B Madhuwapur, Allahabad, India.

compounds they were singly substituted for glucose in the basal medium. The concentration of different compounds was so adjusted as to contain an amount of carbon equivalent to that present in 5 g of glucose except for starch and dextrin which were added in the same quantity as glucose.

For chromatography the flasks were inoculated daily for 15 days. On the sixteenth day when 1 to 15 days old cultures were available from different sets the fungal mats from each set were separately filtered on Whatman No. 42 filter papers. The filtrate of each day was set aside for chromatographic analysis. The mycelial growth on 5th, 10th and 15th day were dried and those dry weights served as quantitative measure of growth. The circular paper chromatographic technique (RANJAN et al. 1955) was employed to detect the presence of various sugars formed during the utilization of different oligosaccharides; n-butanol-pyridine-water (60 : 40 : 30) or n-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5) were used as solvents and aniline diphenylamine phosphoric acid (BUCHAN and SAVAGE 1952) was used as spray reagent. The chromatograms of amino acid were run in n-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5) and they were sprayed with 0.1 % ninhydrine in n-butanol and were dried at 65 °C for 20 minutes. The average Rf values of various sugars are given at appropriate places in the text.

For the study of different nitrogen compounds they were singly substituted for KNO_3 in the basal medium. The same quantity of nitrogen was supplied in each case as present in KNO_3. The amount of peptone was equal to that of KNO_3 (3.5 g).

Only guaranteed chemicals, Pyrex glasswares, and distilled water were used. 25 ml of the medium was poured into 150 c. c. Erlenmeyer flasks which were sterilized at 15 lbs. pressure for 15 minutes. Fractional sterilization followed in cases of oligo- and polysaccharides. Cultures were incubated at room temperature (25 ± 1) for fifteen days. The dry weight of the mycelium was determined as usual.

Observations

Effect of carbon compounds

The dry weight and sporulation on different carbon sources are recorded in Table 1.

The data recorded in the Table show that there was no growth in the control. Amongst the pentoses xylose supported the best growth. Among the hexoses galactose proved to be the best source of carbon and was followed by glucose, sorbose and fructose.

Of the three disaccharides tested, maltose supported very good growth, lactose and sucrose supported good growth. The trisaccharide raffinose acted as a moderate source of carbon.

Of the polysaccharides, starch and dextrin supported good growth while inulin supported less growth. Amongst the alcohols glycerol supported the best growth of the organism while mannitol and sorbitol were poor sources of carbon.

Table 1

Showing the effect of different sources of carbon on the growth and sporulation of *C. capsici*

No.	Carbon compound	Dry weight (in mgs)	Sporulation
1	Glycerol	123.0	Fair
2	Maltose	102.0	Excellent
3	Xylose	91.0	Excellent
4	Starch	70.0	Good
5	Dextrin	66.0	Good
6	Galactose	66,0	Fair
7	Rhamnose	64.0	Good
8	Sucrose	62.0	Fair
9	Lactose	60.0	Fair
10	Glucose	54.0	Good
11	Sorbose	52.0	Fair
12	Raffinose	49.0	Fair
13	Arabinose	47.0	Poor
14	Fructose	46.0	Good
15	Inulin	40.0	Poor
16	Tartaric acid	38.0	Fair
17	Sorbitol	23.0	Poor
18	Mannitol	16.0	Poor
19	Malic acid	..	..
20	Control (without carbon)..	..	..

Utilization of oligosaccharides and their hydrolytic products

(I) Utilization of sucrose (Rf 0.61). Most of the fungi hydrolyse this sugar before assimilation. Daily chromatographic analyses of the medium revealed that the present organism also utilized sucrose through a hydrolytic pathway. On the second day the whole amount of sucrose was converted to glucose (Rf 0.66) and fructose (Rf 0.69). The same chromatogram also established that the present organism assimilated glucose earlier than fructose. During the process of assimilation of sucrose, it was observed that besides glucose and fructose one more sugar was formed in the medium.

The dry weight, chromatographic results on sucrose and on its hydrolytic products are summarized in Fig. 1.

The present organism was also grown on a mixture of glucose and fructose (hydrolytic products of sucrose) and it was found that the rate of utilization of glucose was faster than that of fructose.

(II) Utilization of maltose (Rf 0.55). Maltose on hydrolysis yields glucose only. Chromatographic analysis of the medium containing this sugar revealed the formation of glucose during its assimilation. Maltose persisted in the medium upto the fifth day but the presence of glucose was recorded on the fourth and fifth day only. During utilization of maltose, one more sugar was recorded in the medium. The Rf value of this band was

0.18 which indicated it to be maltotriose (an oligosaccharide), and it was suspected that this sugar was synthesized during the hydrolysis of maltose.

The dry weight and chromatographic results on maltose and its hydrolytic product (glucose) are recorded in Fig. 2.

A comparison of growth of this organism on maltose with that on glucose showed that the organism attained better growth on maltose than on glucose. Chromatographic analysis of the medium containing glucose showed that it was consumed on the ninth day.

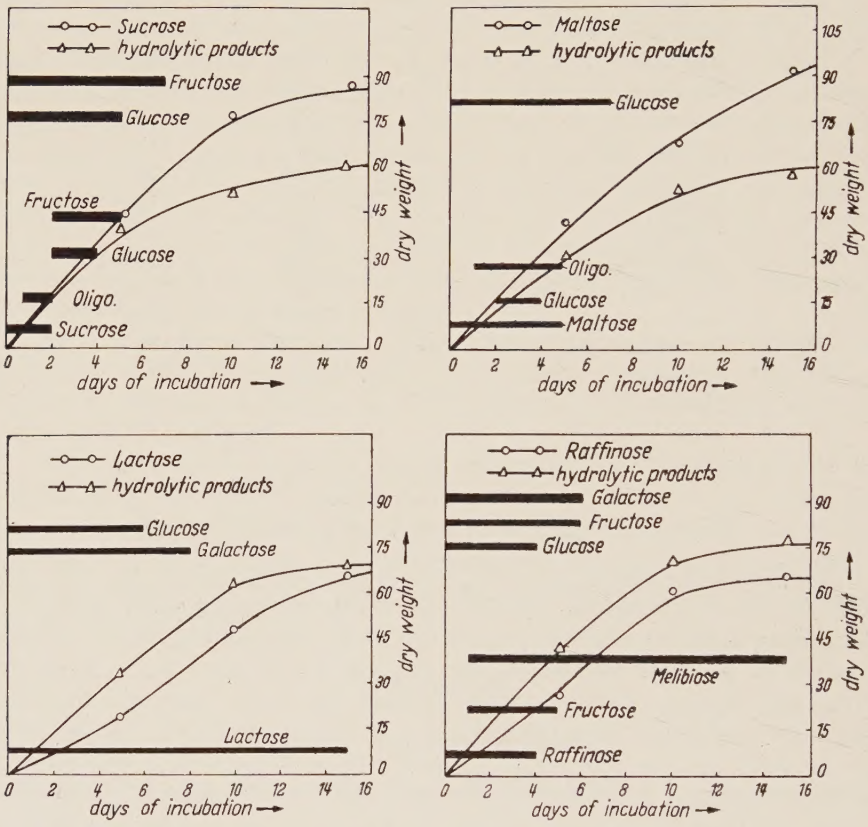


Fig. 1. Utilization of sucrose, its hydrolytic products and increase in dry weight by *Colletotrichum capsici*

Fig. 2. Utilization of maltose, its hydrolytic products and increase in dry weight by *Colletotrichum capsici*

Fig. 3. Utilization of lactose, its hydrolytic products and increase in dry weight by *Colletotrichum capsici*

Fig. 4. Utilization of raffinose, its hydrolytic products and increase in dry weight by *Colletotrichum capsici*

(III) Utilization of lactose (Rf 0.51). Lactose has not been reported to be present in plants. Hydrolysis of lactose with acid or lactase yields a molecule of glucose and galactose. Daily chromatographic analyses

of the medium showed that this sugar was not hydrolysed by the present organism and glucose and galactose were, therefore, not formed in the culture medium. It was also found that the organism could not utilize all the lactose of the medium even in fifteen days. The dry weight and chromatographic results on lactose and in a mixture of its hydrolytic products are recorded in Fig. 3. Chromatographic analysis of the medium containing a mixture of glucose and galactose (hydrolytic products of lactose) revealed that the present organism assimilated glucose (Rf 0.67) two days earlier than galactose (Rf 0.65).

(IV) Assimilation of Raffinose (Rf 0.40). Daily chromatographic analyses of the medium showed that raffinose was utilized through a hydrolytic pathway. The raffinose molecule was broken into fructose and melibiose alone. The fructose fraction was utilized faster while the melibiose fraction persisted upto fifteenth day.

The dry weight and chromatographic results on raffinose and its hydrolytic products are shown in Fig. 4. An analysis of the mixture of the hydrolytic products (glucose, galactose, fructose) revealed that the present organism utilized both fructose and galactose in six days and glucose in four days.

Effect of different nitrogen compounds

The dry weight and sporulation of fungus after its growth on various media are recorded in Table 2.

The results of the Table 2 indicate that the amount of growth of *Colletotrichum capsici* differs considerably on different nitrogen compounds. Ammonium sulphate supported best growth.

Both the dicarboxylic acids viz., glutamic acid and aspartic acid were good sources but the former was slightly better for growth.

All the five monoamino carboxylic acids exhibited different behaviour. dl-valine and dl-alanine supported good growth of the organism. The growth was moderate on glycine but poor on dl-leucine and dl-serine.

Peptone, asparagine, urea, magnesium nitrate and urea proved to be good sources.

There was no growth in medium containing sodium nitrite or in a nitrogen free medium.

The results of Table 2 also indicate that the source of nitrogen in the medium exerts dominating influence on sporulation of the fungus. Excellent sporulation was obtained on peptone and magnesium nitrate. Sporulation was good on asparagine, urea, alanine, arginine, aspartic acid, potassium nitrate and thiourea. It was fair on valine, glutamic acid, glycine, leucine and serine. Tryptophane, phenylalanine and ammonium sulphate supported poor sporulation of the organism.

Assimilation rate of amino acids: The assimilation rate of those amino acids which were present in the host either in free form or in their protein complex was determined chromatographically. The following aminoacids viz., glutamic acid (Rf 0.47), aspartic acid (Rf 0.43), leucine

Table 2

Showing dry weights in mgs and sporulation of *Colletotrichum capsici* on media containing equivalent amount of different nitrogen compounds

No.	Nitrogen compounds	Dry weight	Sporulation
1	Ammonium sulphate	112	Poor
2	Peptone	93	Excellent
3	l-Asparagine	91	Good
4	Urea	84	Good
5	Magnesium nitrate	76	Excellent
6	dl-Valine	66	Fair
7	dl-Alanine	65	Good
8	l-Glutamic acid	63	Fair
9	l-Arginine	54	Good
10	dl-Aspartic acid	52	Good
11	Potassium nitrate	51	Good
12	Glycine	46	Fair
13	l-Histidine	46	Fair
14	Thiourea	45	Good
15	dl-Leucine	36	Fair
16	Phenylalanine	35	Poor
17	dl-Serine	34	Fair
18	Tryptophane	30	Poor
19	Sodium nitrite	..	..
20	Control (without nitrogen)	..	..

Table 3

Effect of different aminoacids and their mixture in the medium and dry weight of *Colletotrichum capsici*

Aminoacids	Dry weight in mgs			Presence of amino acids for the period ending
	5th day	10th day	15th day	
Glutamic acid	22	38	62	8th day
Aspartic acid	18	30	55	10th day
Leucine	16	28	35	15th day
Histidine	22	35	48	12th day
Mixture of aminoacids	28	47	79	15th day

(Rf 0.80) and histidine (Rf 0.20) and their mixture were used. The results are summarized in Table 3.

Table 3 shows that the maximum mycelial growth of *Colletotrichum capsici* was attained on a mixture of all the four amino acids. It was also clear from the table that good amino acid sources i. e., glutamic acid, aspartic acid were consumed earlier i. e., in 8, 10 days respectively while the poor sources viz., leucine and histidine were consumed slowly. It was also noticed that the amino acids included in mixture were not completely

finished even in fifteen days. The chromatographic results indicated that both good and poor aminoacids were utilized simultaneously from the mixture because a simultaneous decrease in the intensity of bands of all the amino acids was observed from 2nd to 15th day.

Discussion

Utilization of various carbon compounds depends on the ability of the fungi either to assimilate them directly or to convert the complex carbon compounds into forms that can be used directly. In the latter process the enzymes associated with the organisms play an important role. Those carbon compounds which can be assimilated most readily or can be oxidized with the least expenditure of energy stored in the compound appear to constitute the food of first choise for fungi.

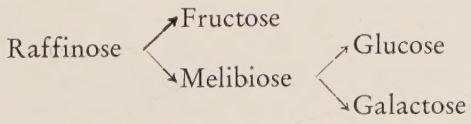
Colletotrichum capsici grew well on glucose. Of the hexoses d-glucose is biologically the most important and is utilized virtually by all cultivable fungi, although a few of them are unable to utilize it and it has been suggested by Lwoff et al. (1949) that non-utilization of glucose is due to the lack of necessary enzymes responsible for the phosphorylation. Galactose was found to be better source of carbon than glucose. Horr (1936) in case of *Aspergillus niger*, Kensel (1937) in *Diplodiaceae* showed that galactose was a poor source of carbon.

Pentoses (arabinose, rhamnose and xylose) have generally been regarded as poor sources of carbon, but the present organism had a favourable growth on all the pentoses. Similar results were obtained by Hawkins (1915) for *Glomerella cingulata*, Grewal (1954) for *Colletotrichum papayae* and Kendric and Walker (1950) for *Colletotrichum phomoides*.

Blank and Talley (1941) and Thind and Rhandhawa (1957) found maltose and sucrose to be good sources of carbon for their fungi. The present organism showed almost similar behaviour. It may, however, be mentioned that maltose has been reported to be a poor source of carbon for the growth of *Colletotrich umfalcatum* (Rama Krishnan 1942) and *Gloeosporium musarum* (Grewal 1954).

According to Lilly and Barnett (1951) only those fungi which produce amylase are able to utilize starch; this ability is common but not universal among fungi. Fergus (1952) obtained poor growth of *Penicillium digitatum* on starch. Brock (1951), Agarwal (1958), and Thind and Randhawa (1957) found it to be a good source of carbon for their fungi. In the present case starch supported good growth and it was probably due to the liberation of active glucose as explained by Tandon and Bilgrami (1958).

According to Neuberg and Mandl (1960) raffinose molecule breaks up as shown below.



He reported that invertase hydrolyses raffinose into fructose and melibiose only. The further breakdown of melibiose depends upon the secretion of melibiase by the organism. During chromatographic analysis of raffinose only fructose and melibiose were noticed and thus it appears that only invertase is secreted by the present organism.

The work of the various investigators clearly show that sugar alcohols behave differently. The work of BILGRAMI (1956) showed that glycerol was significantly good for *Phyllosticta cycadina* and poor for *Phyllosticta artocarpina.* KENDRIC and WALKER (1950) working with *Colletotrichum papayae* found glycerol as good source of carbon. HAWKER (1939), SAKSENA and MEHROTRA (1949), and TANDON and AGARWAL (1957) reported mannitol and sorbitol to be poor sources of carbon for their fungi. The results of the present investigation agreed with the above mentioned workers.

Organic acids in general are poor sources of carbon. In the present study tartaric acid supported moderate growth but malic acid completely inhibited the growth of *Colletotrichum capsici.* Similar results were recorded by BILGRAMI (1956) who found that malic acid completely inhibited the growth of *Pestalotia mangiferae.*

Little attention has been paid to the role of carbon nutrition on the sporulation of fungi. Amongst the monosaccharides xylose supported excellent sporulation of *Colletotrichum capsici.* GREWAL (1954), MATHUR et al. (1950), and KENDRIC and WALKER (1950) also found xylose to be the best carbon source for the sporulation of *Colletotrichum papayae, Colletotrichum lindemuthianum* and *Colletotrichum phomoides* respectively. Amongst the disaccharides maltose was excellent for sporulation. Similar results with this sugar has been reported by MIX (1930) and PATEL et al. (1951) for various fungi.

It is obvious that there is no correlation between growth and sporulation in *Colletotrichum capsici.*

Colletotrichum capsici has shown considerable versality by its ability to utilize diverse types of nitrogenous compounds. The ability of fungus to utilize nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, and organic nitrogen and further more its failure to utilize atmospheric nitrogen justifies its inclusion in the second group of ROBBINS (1937) classification.

Nitrites are considered to be toxic to the fungi in the acidic medium. The toxicity on the acid side is due to the presence of free nitrous acid in the medium (COCHRANE and CONN 1950 and WOLF 1953), which produces a destructive effect on the proteins and amino acids of fungal cells (LILLY and BARNETT 1951). In the present investigation it was found that there was no growth in medium containing nitrite. The reason given by these workers appear to be responsible for non-utilization of nitrite by this fungus.

The fungus showed good growth on aspartic and glutamic acid which have generally been reported as very good sources of nitrogen by numerous investigators. GREWAL (1954), PAWAR and PATEL (1957) have, however,

observed poor growth of *Gloeosporium papayae, Gloeosporium musarum* and *Colletotrichum papayae* on aspartic acid and *Alternaria ricini* and *Phomopsis vexans* on glutamic acid respectively.

Good growth of the organism was obtained on arginine and histidine. Similar results were reported by Bilgrami (1956) and Thind and Rawla (1959) for *Phyllosticta cycadina* and *Gloeosporium piperatum* respectively.

All the three monoamino carboxylic acids viz., alanine, valine and glycine proved to be good sources. Bilgrami (1956), Grewal (1954), and Thind and Rawla (1959) found them to be good for the growth of their fungi. The results differ from those of Steinberg (1950) who found them to be poor sources of nitrogen for the growth of *Aspergillus niger*.

While studying the nutrition of wheat bunt fungus (*Tilletia caries*), Murey and Zscheile (1956) found evidence of antagonistic effects among various amino acids, but in the present investigation maximum growth of *Colletotrichum capsici* was attained on a mixture of amino acids, better than on the individual amino acids constituting the mixture.

Little attention has so far been paid to the role of nitrogen nutrition on the sporulation of fungi. A critical survey of the Table 2 makes it clear that there was no correlation, all grades of sporulation were recorded with significantly good or poor growth.

Acknowledgements

I express my deep gratitude to Prof. R. N. Tandon for his keen interest and valuable suggestions. I am also grateful to Dr. K. S. Bilgrami for his help and interest shown throughout the course of this investigation.

Summary

The growth and sporulation of *Colletotrichum capsici* was examined on 19 carbon compounds. No growth occured in the absence of organic carbon. The best dry weight of *Colletotrichum capsici* was on glycerol. Among the hexoses galactose supported the best growth and was followed by glucose, sorbose and fructose. Of the three disaccharides, maltose supported excellent growth while lactose and sucrose supported good growth. The growth was good on starch and dextrin but it was poor on inulin. Mannitol and sorbitol supported less growth. Chromatographic studies showed that raffinose, sucrose and maltose were used after hydrolysis. Only two sugars viz., melibiose and fructose were obtained during the assimilation of raffinose. The laevulose fraction was utilized faster while the melibiose fraction persisted upto 15th day. The organism converted maltose by transglycosidation into an oligosaccharide (maltotriose) with simultaneous liberation of glucose. With sucrose also an oligosaccharide was synthesized. Lactose was utilized through a non-hydrolytic pathway.

The influence of 19 different nitrogen sources was studied on the growth of *Colletotrichum capsici*. The organism belonged to the 2nd. group of Robbin's classification as it failed to assimilate atmospheric nitrogen. Nitrites inhibited the growth. Ammonium sulphate supported best growth. Peptone, asparagine, urea, ammonium chloride, ammonium nitrate, potassium nitrate, glutamic acid, alanine, valine and glycine were also good sources.

Chromatographic studies showed that there was no antagonistic effect of different amino acids and even the poor sources of amino acids did not adversely influence the growth when they were given in combination with good amino acids.

Zusammenfassung

In 19 verschiedenen Kohlenstoffquellen wurde das Wachstum und das Sporulieren von *Colletotrichum capsici* geprüft. Ohne organischen Kohlenstoff erfolgte kein Wachstum. Das höchste Trockengewicht wurde mit Glyzerin als Kohlenstoffquelle erzielt. Unter den Hexosen war Galaktose am besten, gefolgt von Glukose, Sorbose und Fruktose. Von den drei Disacchariden wurde Maltose am besten verwertet, während Laktose und Saccharose etwas schwächer waren. Gut war das Wachstum auch bei Zugabe von Stärke und Dextrin, während es bei Zugabe von Inulin ausgesprochen schwach war. Auch Mannit und Sorbit wurden schlecht ausgenutzt. Untersuchungen mit Hilfe der Papierchromatographie zeigten, daß Raffinose, Saccharose und Maltose erst nach Hydrolyse aufgenommen wurden. Nur zwei Zucker, nämlich Melibiose und Fruktose wurden während der Aufnahme von Raffinose nachgewiesen. Die Lävulosefraktion wurde sehr rasch verwertet, während die Melibiosefraktion bis zum 15. Tage erhalten blieb. Der Organismus wandelte Maltose in ein Oligosaccharid (Maltotriose) um unter gleichzeitiger Abspaltung von Glukose. Mit Saccharose wurde ebenfalls ein Oligosaccharid synthetisiert. Laktose wurde nicht über eine Hydrolysation verwertet.

Daneben wurden auch 19 verschiedene Stickstoffquellen auf ihren Einfluß auf das Wachstum von *Colletotrichum capsici* untersucht. Der Organismus gehört nach der Robbinschen Klassifizierung zur 2. Gruppe, d. h. er vermag atmosphärischen Stickstoff nicht zu verwerten. Nitrite hemmen das Wachstum. Bei Zugabe von Ammoniumsulfat wurde das beste Wachstum beobachtet. Pepton, Asparagin, Harnstoff, Ammoniumchlorid, Ammoniumnitrat, Kaliumnitrat, Glutaminsäure, Alanin, Valin und Glycin waren ebenfalls gute Stickstoffquellen.

Untersuchungen mit Hilfe der Papierchromatographie zeigten, daß kein Antagonismus zwischen verschiedenen Aminosäuren nachweisbar ist. Auch Aminosäuren, die eine schlechte N-Quelle darstellten, vermochten das Wachstum nicht negativ zu beeinflusen, wenn sie in Kombination mit gut verwerteten Aminosäuren gegeben wurden.

Literaturverzeichnis

Agnihotri, V. P., 1958: Physiological and pathological studies of *Colletotrichum capsici* causing leaf spot disease of *Pothos scandens*. M. Sc. Thesis, Allahabad University.

Agarwal, G. P., 1958: Nutritional studies on *Curvularia penniseti* II. Carbon and nitrogen requirements. Phyton **11**, 143—151.

Bilgrami, K. S., 1956: Pathological and physiological studies of some fungi causing leaf spot diseases. D. phil. Thesis, Allahabad University.

Blank, L. M., and P. J. Talley, 1941: The carbon utilization and carbohydrate activity of *Phymatotrichum omnivorum*. Amer. J. Bot. **28**, 564—569.

Brock, T. D., 1951: Studies on the nutrition of *Morchella esculenta*. Bull. Torrey Bot. Club **43**, 402—422.

Buchan, J. L., and R. I. Savage, 1952: Paper chromatography of some starch conversion products. Analyst **77**, 401.

Cochrane, V. W., and J. E. Conn, 1950: The metabolism of species of *Streptomyces* II. The nitrate metabolism of *Streptomyces coelicolor*. Bull. Torrey Bot. Club **77**, 10—18.

Fergus, C. L., 1952: The nutrition of *Penicillium digitatum*. Mycologia **44**, 183—192.

Grewal, J. S., 1954: Cultural and pathological studies on some fungi causing diseases of fruits. D. Phil. Thesis, Allahabad University.

Hawkins, L. A., 1915: The utilization of certain pentoses and compounds of pentoses by *Glomerella cingulata*. Amer. J. Bot. **2**, 375—389.

Hawker, L. E., 1939: The influence of various sources of carbon on the formation of perithecia by *Melanospora destruens* in the presence of accessory growth factors. Ann. Bot. (N. S.) **3**, 455—468.

Horr, W. H., 1936: Utilization of galactose by *Aspergillus niger* and *Penicillium glaucum*. Plant Physiol. **11**, 81—89.

Kendric, J. B., and J. C. Walker, 1948: Anthracnose of Tomato. Phytopathology **38**, 247—260.

Kensel, K., 1937: Carbohydrate utilization by corn diplodias. Phytopathology **27**, 1119.

Lilly, V. G., and H. L. Barnett, 1951: Physiology of fungi. McGraw Hill Book Company, Inc., New York.

* Lwoff et al., 1949: Compt. rend. (Paris) **228**, 342—344.

Mathur, R. S., H. L. Barnett, and V. G. Lilly, 1950: Factors influencing growth and sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. Phytopathology **40**, 104—114.

Mix, A. J., 1933: Factors affecting the sporulation of *Phyllosticta solitaria* in artificial culture. Phytopathology **23**, 503—524.

Murray, H. C., and Zscheile, 1956: Phytopathology **3**, 165—175.

Nickerson, W. J., and J. W. Williams, 1947: Nutrition and Metabolism of pathogenic fungi. Waltham, Mass., USA, pp. 130.

Neuberg, C., and I. Mandl, 1950: Cited by Sumner, J. B., and K. Myrback: The Enzymes. Academic Press, New York.

Patel, M. K., et al., 1950: *Pestalotia psidii* on guava. Indian Phytopath. **3**, 165—167.

Pawar, V. H., and M. K. Patel, 1937: *Phomopsis* blight and fruit rot of Brinjal. Indian Phytopath. **10**, 110—115.

Ranjan, S., et al., 1955: Chromatographic studies on the amino acid metabolism of healthy and diseased leaves of *Croton sparsiflorus*. Pnisibis **21**, 42.

Rama Krishnan, K. S., 1941: Studies on the genus *Colletotrichum* II. Physiological studies on *Colletotrichum falcatum*. Proc. Indian Acad. Sci. **14**, 395—411.

ROBBINS, W. J., 1937: The assimilation by plants of various forms of nitrogen. Amer. J. Bot. **24**, 243—250.

SAKSENA, R. K., and B. S. MEHROTRA, 1949: Carbon requirements of the genus *Pythium*. Proc. Nat. Acad. Sci. (India) **19**, 1—11.

STEINBERG, R. A., 1950: Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. Bot. Rev. **16**, 208—228.

TANDON, R. N., and V. P. AGNIHOTRI, 1960: Pathological Studies of *Colletotrichum capsici* causing leaf spot disease of *Pothos scandens*. Proc. Nat. Acad. Sci. (India), **28**, 16—21.

— —, and G. P. AGARWAL, 1957: Effect of different carbon compounds on the growth and sporulation of *Fusarium coeruleum*. Proc. Nat. Acad. Sci. (India) **27**, 78—84.

— —, and K. S. BILGRAMI, 1959: The utilization of monosaccharides by *Pestalotia banksiana* and *Pestalotia citri*. Proc. Nat. Inst. (India) **25**, 138—142.

THIND, K. S., and H. S. RANDHAWA, 1957: Studies on the nutrition of fungi. The influence of different sources of carbon on the growth and sporulation of *Colletotrichum capsici*. Proc. Nat. Acad. Sci. (India) **27**, 39—47.

— —, 1957: Studies on the nutrition of fungi II. The influence of different nitrogen sources on the growth and sporulation of *Colletotrichum capsici*. Proc. Nat. Acad. Sci. (India) **27**, 47—53.

— —, and RAWLA, 1959: Studies on the nutrition of fungi IV. Proc. Nat. Acad. Sci. (India) **29**, 101—109.

WOLF, F. T., 1953: The utilization of carbon and nitrogen compounds by *Ustilago zeae*. Mycologia **45**, 516—522.

* Not seen in original.

Section of Virology, Instituto Agronômico, Campinas, Brazil

Studies on Brazilian Tobacco Streak

by

A. S. Costa and Ana Maria B. Carvalho

With 9 figures

Table of Contents: I. Introduction. II. Geographic distribution. III. Economic importance. IV. Host range: A. Species found naturally infected or infected in the greenhouse; B. Test plants for local lesions. V. Description of symptoms on various host plants: A. Tobacco; B. Cotton; C. Soybean; D. *Crotalaria paulina*; E. Tomato; F. Bean. VI. Transmission of the disease: A. Seed transmission; B. Graft transmission; C. Mechanical inoculation; D. Attempts to find the vector of the disease. VII. Studies on properties of the virus in vitro: A. Dilution end point; B. Thermal end point; C. Resistance to aging in vitro. VIII. Strains of the Brazilian tobacco streak virus: A. Description of isolates; B. Cross protection tests; C. Protective effect of a super mild strain against further infection with severe strains. IX. Studies on virus concentration. X. Description of the Brazilian strain complex as a new variety. XI. Discussion. — Summary. — Zusammenfassung. — Literature cited.

I. INTRODUCTION

The presence of a streak disease of the tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L.) was reported from Brazil previously (Costa, Lima and Forster 1939). Studies then made on the host range, symptomatology, and physical properties of the causal virus indicated that it belonged to the tobacco streak virus group (*Annulus orae* H.). It was pointed out that recovery from the necrotic phase of the disease was not so complete as in the case of tobacco streak in the United States, and that the upper recovered leaves showed a tendency to have crenated margins, lack part of the lamina, or showed other deviations from normal. One of the most striking symptoms caused by the Brazilian streak virus on tobacco plants in late stages of the disease is a modification of the flower of certain varieties, the corolla of which becomes split, showing separated petals. These also show invariably the presence of a filament-like appendage at their upper end. Symptoms of this type, but of a lesser degree, were noticed on Turkish tobacco plants affected by the American tobacco streak virus (Costa 1945).

Recent studies have greatly extended the host range of the Brazilian tobacco streak and shown that this virus is also responsible for field diseases of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) (COSTA, D'ANDREA PINTO and NEVES 1954) (*Glycine max* (L.) Merr.) (COSTA, MIYASAKA, and D'ANDREA PINTO, 1955) peanut (*Arachis hypogaea* L.), velvet bean (*Stizolobium* sp.) species of *Crotalaria,* and of other cultivated plants and weeds.

All evidence obtained to date favors strongly the view that the Brazilian tobacco streak virus is closely related to the American tobacco streak virus although in some respects it also resembles the tobacco ring spot virus (*Annulus tabaci* H.). The present paper is a review of previous work, including results of experiments conducted since the first paper on the disease was published. A description of the Brazilian streak virus is included.

II. GEOGRAPHIC DISTRIBUTION

Viruses of the tobacco streak group are known to occur in the United States (JOHNSON 1936, VALLEAU and JOHNSON 1932), Canada (BERKELEY and PHILLIPS 1943), Italy (GIGANTE 1952) and Sumatra (JOCHEMS 1930). The Brazilian tobacco streak virus has been reported only from the state of São Paulo, Brazil. Surveys of the diseases caused by this virus in tobacco, cotton, and soybean plantings have indicated that the virus is more prevalent in the southeastern part of the state.

III. ECONOMIC IMPORTANCE

The Brazilian tobacco streak virus is responsible for losses to several crops in the state of São Paulo. Its importance is now being better recognized as knowledge is gained on its host range and on the diseases that it causes.

Tobacco plants affected by the Brazilian tobacco streak are stunted and have a reduced yield. The leaves that show necrosis become worthless; those found in the recovery phase are thickened, brittle, and practically of little value in case of flue cured and cigar wrapper tobacco. Most of the tobacco produced in São Paulo is used for twist tobacco. Leaves from affected plants can be used without too much disadvantage for this kind of tobacco.

The incidence of Brazilian tobacco streak varies in different areas of the state. In infested areas the percentage of streak in tobacco plantings may vary from 0 to 50 per cent or more, according to season and year. The relative incidence of the disease was recorded in five different experiment stations and is given in table 1.

Cotton plants affected by the type of mosaic caused by the Brazilian tobacco streak virus do not show much reduction in yield. This probably results from the fact that the disease on cotton appears somewhat late in the season. Comparisons made in 1954 between 25 diseased plants and 25 healthy ones, chosen at random, gave the following results: The healthy plants had a

Table 1
Incidence of Brazilian tobacco streak recorded in tobacco plantings from five localities in the State of São Paulo

transplanting month	Percentage of plants infected with Brazilian tobacco streak in field plantings made at five experiment stations				
	Campinas %	Tupi %	Limeira %	Piracicaba %	Tietê %
October	44.4	—	—	—	—
November	20.0	—	—	4.4	8.9
December	6.0	—	4.1	22.4	5.4
January	7.5	—	3.3	6.1	4.9
February	3.6	59.0	2.1	—	6.0
March	0.9	25.2	1.1	1.6	4.0
April	0.4	18.8	—	—	0.9
May	—	0.6	—	—	—

total of 301 bolls, weighing 1,337.9 g; affected plants had a total of 323 bolls, weighing 1,387.8 g. The incidence of this type of cotton mosaic is quite variable. At the main experiment station of the Instituto Agronômico, Campinas, infection with this type of mosaic in cotton plantings was about 50 per cent in mid season 1953. Late in the season the plantings had practically 100 per cent infected plants. In 1954 incidence of this mosaic type in the same area was about 25 per cent. A little over 35 per cent was recorded for the same areas in 1955. Surveys made in 1954 in cotton plantings from various parts of the state of São Paulo where cotton is grown indicated that this type of mosaic was absent in most of them. Plantings made in areas around Itapetininga, Tatui, and Tietê had an incidence of mosaic over 25 per cent.

A disease similar to bud blight of soybean (Allington 1946) was recorded in São Paulo and shown to be caused by the Brazilian tobacco streak virus (Costa, Miyasaka and D'Andrea Pinto 1955). The yield of affected soybean plants is nihil and the disease is quite prevalent in soybean plantings in the southeastern areas of the state. In these areas the bud blight-like disease caused by the Brazilian streak virus may in some years be a limiting factor for this crop.

A type of top necrosis caused by the Brazilian tobacco streak virus is frequently encountered in peanut plantings. Peanut plants seem to be more resistant to the disease than soybean and consequently the disease is less prevalent and important in plantings of the former.

Damage to cover crops resulting from Brazilian tobacco streak infection was noticed in many instances. This was particularly true in fields of velvet beans. Species of *Crotalaria* such as *C. juncea* L., *C. paulina* Schrank, and *C. spectabilis* Roth., used as cover crops, are also frequently attacked.

IV. HOST RANGE

A. Species found naturally infected or infected in the greenhouse

The American tobacco streak virus has a wide host range. Lists of species susceptible to this virus have been published (BERKELEY and PHILLIPS 1943, FULTON 1948). Its Brazilian counterpart also has a wide host range. A list of the species that were found naturally affected and of those that were infected artificially in the greenhouse is given in table 2.

B. Test plants for local lesions

VALLEAU and DIACHUM (1950) used the local lesions caused by the American tobacco streak virus on leaves of Burley tobacco plants for their quantitative studies. FULTON (1949) reported that guar (*Cyamopsis tetragonalobus*) developed necrotic local lesions adequate for counts when inoculated with the American tobacco streak virus.

Turkish tobacco plants also develop necrotic local lesions on leaves that are inoculated with the Brazilian tobacco streak virus. The lesions caused by most strains are of the concentric ring or diamond shape patterns and not very adequate for counts. One strain caused solid necrotic lesions, and for this strain Turkish tobacco is a good local lesion host. Guar plants did not react consistently when inoculated with the various strains of the virus and the number of local lesions obtained on this host plant was usually low.

In searching for local lesion test plants for the Brazilian tobacco streak virus it was found that *Beta patellaris* (COSTA 1950) was rather susceptible and formed local necrotic lesions when inoculated with this virus. This species also developed local lesions when inoculated with the American tobacco streak virus[1]).

Studies on the host range of the tobacco streak virus in Canada (BERKELEY and PHILLIPS 1943) showed that bean plants (*Phaseolus vulgaris* var. *humilis*) developed local lesions when inoculated with the tobacco streak virus. Similar results were obtained in the United States (FULTON 1948). Neither of these authors, however, seemed to consider bean plants as adequate local lesion test plants for the tobacco streak virus.

When testing a collection of bean varieties for resistance to Brazilian tobacco streak virus by mechanical inoculation, it was found that several types developed local lesions (COSTA 1957). The susceptibility of the varieties varied greatly, but test plants of the variety Manteiga showed usually a high number of lesions when their primary leaves about $^2/_3$ expanded or less were inoculated. Under moderate greenhouse temperatures as in the fall, winter, and spring, the primary leaves of this variety developed a large number

1) During the senior writer's stay at the Sugar Plant Laboratory, U. S. Department of Agriculture, Riverside, Calif., samples of tobacco streak virus were received from Dr. W. D. VALLEAU, Kentucky Agric. Exp. Stat., Lexington, Ky, being then tested on *Beta patellaris*.

Table 2

List of host plants of the Brazilian tobacco streak virus

AIZOACEAE

Tetragonia expansa Murr.

AMARANTHACEAE

Amaranthus sp.
Celosia thompsonii Hort.
cristata L.
Gomphrena globosa L.

CHENOPODIACEAE

Beta macrocarpa Guss.
patellaris Mocq.
trigyna Waldst. and Kit.
vulgaris L.
Chenopodium album L.
amaranticolor Coste & Reyn.
murale L.
quinoa Willd.

COMPOSITAE

Acanthospermum hispidum DC.
**Ambrosiae polystachya* DC.
**Bidens pilosa* L.
Callistephus chinensis Nees.
Cichorium endivia L.
**Dahlia variabilis* Desf.
Emilia flammea Cass.
**Helianthus annuus* L.
Lactuca sativa L.
Sonchus oleraceus L.
Zinnia elegans Jacq.

DISCOREACEAE

Discorea batatas Decne.

EUPHORBIACEAE

Euphorbia comosa Vell.

LABIATAE

Ocimum basilicum L.

LEGUMINOSAE

**Arachis hypogaea*
Canavalia ensiformis DC.
**Crotalaria juncea*
* *lanceolata* E. Mey.
* *paulina*
spectabilis
Cyamopsis tetragonalobus (L.) Taub.
Dolichos lablab L. var. *purpureus*
**Glycine max*
Lupinus albus L.
Phaseolus aureus Roxb.
Phaseolus vulgaris
**Stizolobium utile* (Wall.) Ditn.
Tephrosia candida DC.
Vicia faba L.
Vigna sinensis Endl.

MALVACEAE

**Gossypium barbadense* L.
hirsutum
**Hibiscus cannabinus* L.
esculentus L.
Malva parviflora L.
Sida micrantha St. Hil.
rhombifolia L.

PEDALIACEAE

Sesamum indicum L.

PHYTHOLACCACEAE

Phytholacca decandra L.

PRIMULACEAE

Samolus floribundus H. B. C.

SAXIFRAGACEAE

**Hydrangea hortensia* Sieb.

SOLANACEAE

Capsicum annuum L.
frutescens L.
Cyphomandra betacea Miers
Datura sp.
stramonium L.
Lycopersicon esculentum Mill.
**Nicandra physaloides* Gaertn.
Nicotiana alata Link & Otto.
glutinosa L.
langsdorfii Weim.
nudicaulis S. Wats.
repanda Willd.
* *rustica* L.
* *sylvestris* Spegaz. & Comes.
* *tabacum*
Physalis pubescens L.
floridana Rydberg.
Solanum auriculatum Ait.
demissum Lindl.
melongena L.
melongena L. var. *ovigerum* Dun.
nigrum L.
nodiflorum Desv.
simplicifolium Bitter.
* *tuberosum* L.

* Plants marked with an asterisk were found naturally infected.

of pin point necrotic lesions. Plants grown during the summer months when the greenhouse temperatures were rather high usually developed small necrotic rings or yellow spots instead of pin point lesions. This tendency to form pin point lesions, small rings, or other types of lesions varied also with strains of the virus. The variety Manteiga is immune from tobacco mosaic virus and permits the separation of the Brazilian tobacco streak virus from mixtures with the former one.

V. DESCRIPTION OF SYMPTOMS ON VARIOUS HOST PLANTS

The Brazilian tobacco streak virus is capable of inciting symptoms of the mosaic type, necrotic symptoms or witches' broom. On many species the virus induces initial symptoms of the necrotic type followed by a certain degree of recovery, and later by leaf and flower malformation. The descriptions of the symptoms caused on certain species follows.

A. Tobacco

Tobacco plants affected by the Brazilian tobacco streak disease show three distinct stages: 1. the acute or necrotic stage; 2. early recovery; 3. chronic or late recovery stage.

1. Necrotic or acute stage: the leaves of tobacco plants inoculated with tobacco streak virus by rubbing develop local necrotic lesions usually from two to five days after inoculation. Under extremely favorable conditions, the local lesions may appear within 24 hours or slightly less. Local lesions appear as rings, solid necrotic spots or in diamond-shaped patterns (Fig. 1 — a, b, c, d). If very young leaves are inoculated near the tip, this area will show local symptoms as spots, whereas areas near the base of the leaf may show streak following the veins. This apparently indicates that infection of the area that showed streak was the result of virus translocated from the areas near the tip or from virus that moved into the leaf from other inoculated leaves of the same plant.

Movement of the virus from the inoculated leaves toward the new growth is followed by the appearence of streak in the new leaves (Fig. 2, 3). The lesions appear to be oil soaked at first, but later turn brown and then whitish. The necrotic pattern in these leaves is mostly of the streak type, although irregular concentric or parallel lines are also common. Necrotic symptoms are shown by a number of leaves, varying from three to ten, and usually the last ones to show systemic necrosis present the symptoms only near the tip. In severe cases necrosis may occasionally be found in the parenchyma of the petioles or in the stem pith.

2. Early recovery: after the leaves that showed systemic necrotic symptoms, a number of leaves are formed that appear completely normal (Fig. 4). Following these the next formed leaves begin to show the symptoms of the chronic or late recovery stage, the transition being gradual.

3. Chronic or late recovery stage: the symptoms of the chronic stage vary in severity according to the tobacco variety, strain of the infecting virus, and age and vigor of the infected plant. If plants are infected when young there is enough time for the disease to progress through the three stages, but plants infected late may show only the necrotic stage or the two first stages. Even these plants, however, may be induced to show the chronic or late recovery symptoms if they are cut back and stimulated to develop vigorous axillar growth.

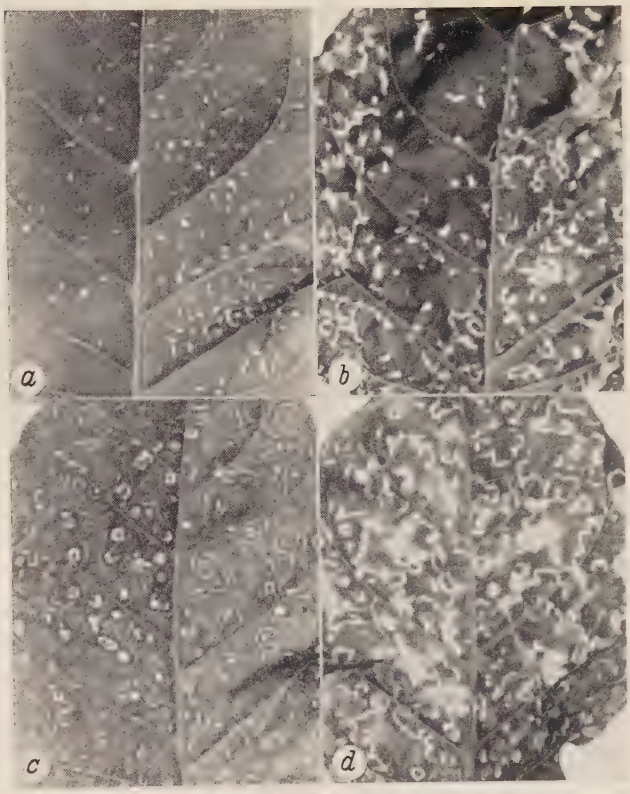


Fig. 1. a, b, c, and d. Various types of local lesions induced by Brazilian tobacco streak virus isolates on Turkish tobacco

The main symptoms of the chronic stage are modifications of the leaf shape and texture, and malformation of the flower (Fig. 5 — a, b, c, d; 6 — a). The leaves formed in the chronic stage are generally thicker than normal and show a smoother texture. Sections of diseased leaves at this stage showed that the palisade cells are considerably larger than those in normal leaves. The shape of the leaf blade is changed in various ways, becoming narrower for certain varieties, with or

Fig. 2. Tobacco plant of the variety Geudertheimer, showing systemic streak

without crenated margins, and lacking part of the lamina, mostly near the point of insertion on the stem. Varieties which have sessile leaves may show petiolated leaves at this stage, and this type of symptom originated the name "couve" given to the disease in Brazil, which means cabbage-leaved tobacco. Healthy plants of the Turkish variety have petiolated leaves, but they show vestiges of auricles near the point of insertion on the stem. Infected plants at the recovery stage do not show them.

Fig. 3. Symptoms of streak on a tobacco leaf (var. Geudertheimer)

The abnormality induced on flowers of affected plants is one of the most distinctive features of the chronic stages. For most tobacco varieties the corolla that is normally tubular splits (Fig. 7) and the petals become separated, specially at the upper half. Invariably these petals end in a filament-like appendage not present in normal flowers. This last symptom has been noted as a constant feature in all infected tobacco varieties, whereas splitting of the corolla may not be shown by certain varieties, such as the one called Bright Virginia. Affected plants show a tendency to drop flower buds, and the number of seeds formed per pod is reduced or they are entirely suppressed. Microsporogenesis seemed normal in the cases that were examined.

Most naturally occurring isolates of Brazilian tobacco streak virus induce the symptoms described for the chronic or late recovery stage. This permits the distinction between the Brazilian tobacco streak virus complex and the American tobacco streak. However, a yellow strain of the Brazilian tobacco streak virus complex has been isolated from naturally infected cotton plants that showed yellow mosaic. This strain does not induce the late recovery symptoms that result from infection with the majority of the Brazilian tobacco streak virus collections.

B. Cotton

Cotton plants affected by the regular strains of the Brazilian tobacco streak virus are slightly stunted and have leaves a little smaller than those of healthy plants. The mosaic pattern present in the leaves consists of light green areas between the secondary veins and dark green areas and some blistering along the veins. Some plants show tendency to produce axillary

twigs in greater numbers than those on normal plants. Initial infection of cotton plants can be recognized by the presence of necrotic rings or spots on the leaves.

Symptoms of cotton mosaic due to the Brazilian tobacco streak virus generally appear late in the season. It can be distinguished from the ordinary cotton mosaic (Costa, D'Andrea Pinto and Neves 1954) due to the abutilon mosaic virus because in case of this disease the areas are usually bright yellow on a green background. As it was referred before, there is a strain of Brazilian tobacco streak virus that causes a yellow type of mosaic in cotton. This strain is rare, having been encountered in the field only a few times, and the yellow pattern formed in mosaical plants is different from that in plants infected with the ordinary mosaic (Fig. 8).

Fig. 4. Turkish tobacco plant at the recovery stage

C. Soybean

A disease of soybean that has a close resemblance to American bud blight has been found in Brazil and verified to be caused by the Brazilian tobacco streak virus (Costa, Miyasaka and D'Andrea Pinto 1955). The bud blight-like disease of soybean in São Paulo is not usually present in young plantings. Symptoms of the disease begin to appear when the plants are $^1/_3$ or $^2/_3$ grown. The first symptoms to be noticed consist of yellow irregular spots on the leaves that seem to correspond to areas where the virus was introduced into the plants by the vector. Systemic symptoms appear as curving of the apical growth and vein necrosis. In certain stages of the disease the leaves of affected plants may be dark green. Necrosis is also present in the pith of affected plants, especially near the nodes. After the plants show the systemic necrotic phase of the disease, there is a tendency for recovery and the plants may develop supranumerary axillary branches. These branches have small leaves and the whole plant looks very stunted. Affected plants usually do not produce any seed.

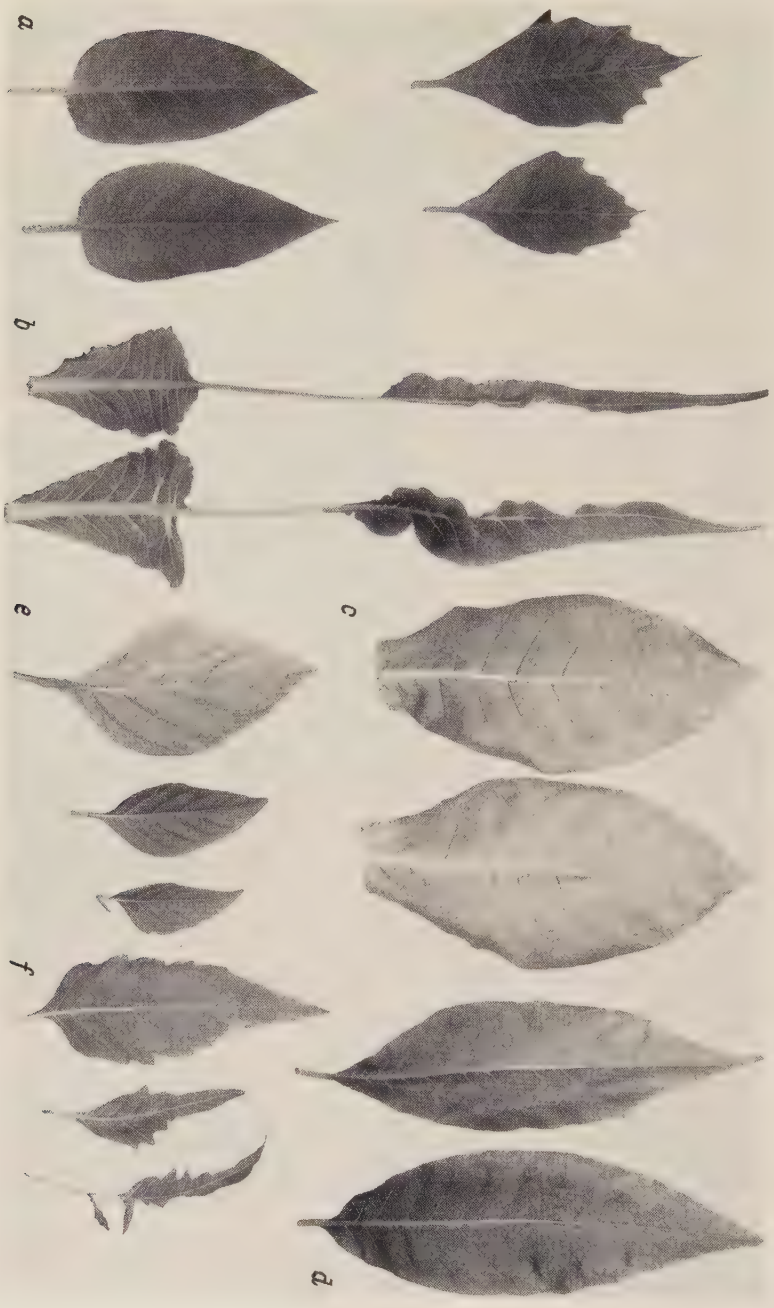


Fig. 5. Leaf modifications induced by the Brazilian tobacco streak virus on various host plants. a: Turkish tobacco (control leaves on the lower row); b: Amarelinho tobacco; c: Bright Virginia tobacco normal and d: affected; e: *Solanum nigrum* (control leaf on left); f: *Nicandra physaloides* (control leaf on left)

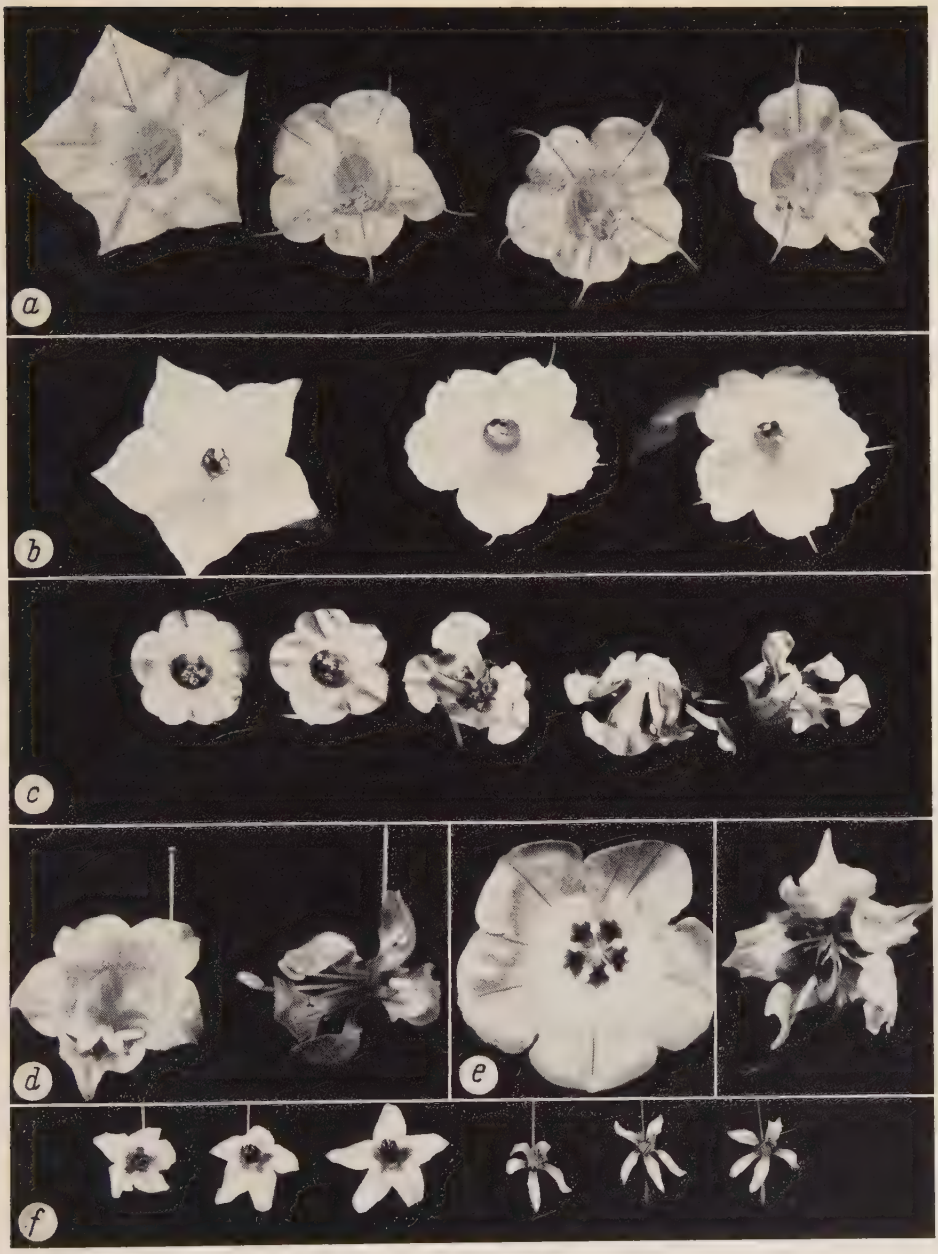


Fig. 6. Flower modifications induced by the Brazilian tobacco streak virus on various host plants (left, normal and right affected flowers). a: Bright Virginia tobacco; b: *Nicotiana sylvestris;* c: *N. rustica;* d: *N. glutinosa;* e: *Solanum nodiflorum;* f: *S. nigrum*

D. *Crotalaria paulina*

This cover crop is frequently affected by the Brazilian tobacco streak virus. The symptoms induced by the disease are mostly of the mosaic type. Most strain complexes of the virus induce a golden type of mosaic that turns the plants rather attractive as an ornamental.

E. Tomato

Tomato plants have never been found naturally affected with the Brazilian tobacco streak virus, even in the neighborhood of tobacco plantings where the disease was prevalent. Artificially, tomato plants have been infected with the virus both by grafting and by mechanical inoculation.

Tomato plants inoculated by rubbing with common strains of the Brazilian tobacco streak virus may show some necrosis following inoculation, but this symptom is not severe as in case of tobacco. Later, yellowing of intervenial areas of the leaves is present and the leaves may show green and yellow ring patterns. Leaf and flower malformation appears in late stages of the disease.

Leaf malformation on infected tomato plants is very striking (Fig. 9) and similar to fern leaf in extreme cases. This type of symptom resembles that described by PRICE and FENNE (1951) for tomato plants infected by a strain of tobacco mosaic virus.

Fig. 7. Inflorescence of a Turkish tobacco plant infected by the Brazilian tobacco streak virus, showing the split corollas

The corolla of infected plants is reduced in size and the petals are narrower than those of normal flowers (Fig. 9).

Tomato plants are somewhat resistant to infection by the common strains of the Brazilian tobacco streak virus and this might explain why naturally infected plants have not been observed yet. A yellow strain of the virus seems to be more infectious to tomatoes than the common strains. This yellow strain, however, does not cause the leaf and flower malformation induced by the other strains of the virus.

Infection of tomato plants with the Brazilian tobacco streak leads to a high degree of sterility under greenhouse conditions in case of certain varieties. This was noticed on plants of the variety King Humbert.

Fig. 8. Mosaic of cotton leaves induced by the Brazilian tobacco streak virus (lower leaves) in comparison with yellow mosaic due to the Abutilon mosaic virus

F. Bean

The Brazilian tobacco streak virus infects certain bean varieties causing local chlorotic or necrotic lesions (Costa 1957). Systemic symptoms are rarely shown, but in case of some virus isolates and bean varieties, this may happen. The symptoms following systemic invasion resemble those of red node (Thomas and Zaumeyer 1950). This disease, however, hat not yet been recorded in the field.

VI. TRANSMISSION OF THE DISEASE

A. Seed transmission

Over two thousand seedlings were raised from seed harvested from Turkish tobacco plants infected by the Brazilian tobacco streak. These plants were kept under observation for periods of about two months and did not show any symptoms of the disease.

Several hundred seedlings were also raised from seeds harvested from cotton plants affected by the mosaic disease caused by the Brazilian tobacco streak virus. All plants were healthy.

B. Graft transmission

The Brazilian tobacco streak-virus is easily transmitted by grafting and this method of inoculation is more effective than mechanical inoculation to infect certain host plants such as tomatoes and cotton.

C. Mechanical inoculation

The Brazilian tobacco streak virus is easily transmitted by mechanical methods if care is taken to avoid inactivation during preparation of the inoculum. Juice from previously inoculated tobacco leaves, from leaves that show incipient systemic necrosis or from young recovered leaves give highly active preparations when the inoculum is extracted in presence of 0.02 M sodium sulfite. Local lesions obtained on leaves of plants of the bean variety Manteiga have a high virus content and permit the isolation of single lesion strains with greatest easiness.

Fig. 9. Symptoms induced by the tobacco streak virus on tomato. a: Leaflet ring spot; b: leaf malformation at the post recovery stage (normal leaf on right); c: narrow corollas from a diseased plant in comparison with normal ones (right)

D. Attempts to find the vector of the disease

The vector of the Brazilian tobacco streak is not known yet. The field spread of the disease in tobacco, soybean, and cotton plantings is rather rapid. This fact, coupled to the high incidence of the disease in some plantings, is rather indicative of the existence of an efficient vector, capable of transmitting the virus from native weed reservoirs to the cultivated plants. Field observations also indicate that the vector moves rapidly, covering large areas. Extensive tests have been conducted with most of the common insects and

Table 3

Results of attempts to transmit the Brazilian tobacco streak virus by various species of insects and mites

Species tested	Plants	
	tested	infected
Aphids		
Aphis coreopsidis (Thos.)	31	0
fabae Scopoli	50	0
gossypii Glov.	179	0
rumicis L.	18	0
Macrosiphum ambrosiae (Thos.)	17	0
erigeronensis (Thos.)	5	0
solanifolii (Ashm.)	17	0
Myzus persicae Sulz.	73	0
Picturaphis vignaphilus Blanchard	5	0
Toxoptera aurantii Koch	3	0
White flies		
Bemisia tabaci (Genn.)	118	0
Trialeurodes vaporariorum (Westwood)	44	0
Leafhoppers		
Agallia albidula Uhl.	11	0
Agalliana ensigera Oman	3	0
Dalbullus maydis Dd. et Wol.	6	0
Protalebra brasiliensis	30	0
Miscellaneous insects		
Epitrix sp.	25	0
Cyrtopeltis modestus (Dist.)	25	0
Hercothrips brasiliensis (Morg.)	110	0
Cotton thrips	14	0
Sunflower thrips	7	0
Grasshoppers	12	0
Mites		
Tetranichus telarius L.	15	0
bimaculatus Harvey	20	0
Hemitarsonemus latus	40	0

mites that are usually found on cotton, tobacco, soybean, and other leguminous plants. In the tests with species of aphids a minimum of 10 insects per plant was used, in some cases as much as 100 or more. Large numbers of individuals per plant were also used in tests with other species. The insects or mites to be tested were previously fed on affected tobacco, soybean, cotton, velvet bean, black nightshade, or sunflower plants, and later transferred onto seedling test plants of the same or different species. All results have so far been negative. A list of the species tested and data concerning these tests is presented in table 3.

VII. STUDIES ON PROPERTIES OF THE VIRUS IN VITRO

When the Brazilian tobacco streak virus was first described, a study of its physical properties was made using Turkish tobacco seedlings as test plants. In the tests reported in this paper, Manteiga bean and Turkish tobacco were used as test plants.

The Brazilian tobacco streak virus, as the tobacco streak virus described from the United States and Canada, is very labile, being rapidly inactivated in expressed plant juice. FULTON (1948) showed that inactivation of tobacco streak in expressed juice was associated with oxidation phenomena, and that activity could be preserved by the addition of reducing substances to the inoculum. The same has been verified in relation to tobacco streak in Brazil. The addition of sodium sulfite or other reducing agents to the inoculum is necessary to avoid failures in routine transmission tests.

The virus source is also of great importance in regard to obtaining inoculum of high virus activity. DIACHUM and VALLEAU (1950) found that young leaves from recovered *Nicotiana rustica* plants supplied very active inoculum. They also confirmed FULTONS findings on the favorable effect of 0.01 M sodium sulfite in preserving the activity of the tobacco streak virus in the inocula.

In case of tobacco plants infected with Brazilian tobacco streak good, potent inoculum can be obtained from recently inoculated leaves that show necrosis, from leaves that show incipient systemic necrosis, and from young leaves on recovered plants growing vigorously (COSTA 1952).

A. Dilution end point

Preliminary tests to determine the resistance to dilution of the Brazilian tobacco streak virus were carried out on Manteiga bean as a test plant. Extraction of the inoculum was made in presence of phosphate buffer plus sodium sulfite and the dilution series was five fold, made with the same diluent. These tests indicated that three isolates of this virus stood dilutions of 5^{-5}. Another series of tests with the three isolates was carried out using Turkish tobacco as a test plant. The results of these tests are in table 4. They show that under optimal conditions these isolates could withstand dilutions of 5^{-6}, but not 5^{-7}.

Table 4

Results of tests to determine the resistance to dilution of three isolates of the Brazilian tobacco streak virus

Dilution	Total number of lesions on three tobacco leaves rubbed with inocula from three isolates in three tests each								
	Isolate 1			Isolate 2			Isolate 3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
5^{-4}	2600	185	334	1500	82	778	677	349	1004
5^{-5}	35	4	9	22	1	24	17	15	11
5^{-6}	2	0	2	1	0	1	*	0	0
5^{-7}	—	0	0	—	0	0	—	0	0

* No local lesions were seen but systemic symptoms were developed by one plant.

B. Thermal end point

The tests to determine the thermal end point of the Brazilian tobacco streak virus were carried out with inocula from young recovered tobacco leaves, extracted in presence of 0.02 M phosphate buffer at pH 7 to which sodium sulfite had been added to attain a 0.02 M concentration. The virus suspensions were placed in small stoppered vials and then immersed in water baths at the desired temperatures for 10 minutes. After the treatment they were rapidly cooled in cold water and then inoculated on the test plants. In a first series, the tests were made on Manteiga bean. The results are in table 5. They show that three of the isolates were still active in inocula treated at 60 °C, but not in those heated to 65 °C.

In another series of tests, only two temperatures, 60 °C and 65 °C, were compared for the inactivation of the five isolates. Turkish tobacco was used

Table 5

Results of test to determine the inactivation temperature of the Brazilian tobacco streak virus

Temperature °C	Total number of lesions on four half leaves of bean plants of the var. Manteiga obtained with inocula from five isolates, treated as indicated				
	1	2	3	4	5
Unheated Control	97	1100	570	220	170
55	29	800	430	138	151
60	0	294	10	6	0
65	0	0	0	0	0

as a test plant. The total number of lesions obtained on three leaves for each of the five isolates with inocula treated at 60 °C was, respectively: 249, 297, 935, 105, and 103. None of the same original inocula treated at 65 °C produced lesions.

C. Resistance to aging in vitro

The present tests to determine the resistance to aging in vitro of the Brazilian tobacco streak virus were carried out on tobacco test plants. Young, rapidly growing, uniform Turkish tobacco plants with about 5 leaves were trimmed in such a way as to leave 3 well developed leaves on them. Each plant received one treatment. The inocula were obtained from tobacco plants and in most cases from recovered tissues. The results of five tests are in table 6. They show that the Brazilian tobacco streak virus is rapidly inactivated in vitro if extraction is effected in presence of water. Most activity seems to be lost during extraction and very little could be detected after aging for 20 minutes or one hour. If the extraction is carried out in presence of phosphate buffer and sodium sulfite, activity remains at a high level and could be detected after 9 hours aging, but not after 27 hours in vitro.

Table 6

Results of tests to determine the resistance to aging in vitro of the Brazilian tobacco streak virus

Period of aging (hours)	Total number of lesions obtained on 3 tobacco leaves with inoculum extracted as indicated, in each of 5 tests									
	1		2		3		4		5	
	W	BS	W	BS	W	BS	W	BS	W	BS
0	37	152	101	166	4	788	2	3700	6	706
1/3	19	99	75	138	1	928	0	1730	0	553
1	1	22	4	49	0	1185	0	2100	0	354
3	0	48	0	25	0	424	0	750	0	347
9	0	11	0	0	0	4	0	0	0	61
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

W = Inoculum extracted in presence of water.

BS = Inoculum extracted in presence of 0.02 M of phosphate buffer plus 0.02 M sodium sulfite.

VIII. STRAINS OF THE BRAZILIAN TOBACCO STREAK VIRUS

The existence of strains of the American tobacco streak virus has been mentioned (FULTON 1949). The Brazilian tobacco streak virus also occurs as a complex of strains. These can be easily separated, the number of strains

that can be found depending only on the amount of work put on the task. The writers have noted that it is easier to obtain strain variants when the tobacco streak virus is recovered from cotton than from tobacco.

Six different isolates of the Brazilian tobacco streak virus have been studied by the writers. They were maintained in the greenhouse for years and at least once they were isolated from single lesions during this period. They presented enough differences to permit their easy separation. Three of these, including the ordinary strain, will be described below.

A. Description of isolates

Ordinary strains

Most of the field isolates of the Brazilian tobacco streak virus, especially when obtained from tobacco, belong to the ordinary group and can be characterized as follows: when inoculated onto Turkish tobacco by mechanical methods they induce severe local necrosis in the form of rings, followed by systemic streak, recovery, and late leaf and flower modifications.

Yellow tobacco streak virus

This virus has been isolated three times from cotton plants that were showing a yellow type of mosaic. The early symptoms following mechanical inoculation on tobacco were similar to those induced by the ordinary strains of the virus. Late symptoms, however, are extremely mild and permit it to be distinguished from the other strains.

Contrary to the ordinary strains, the leaves of the infected plants do not become petiolated nor their margins crenated. The corolla does not split and there is no apiculum at the end of the petals. This strain induces yellow ring spot on tomato. It seems to be more infectious to this plant than other strains.

Severe necrotic

This isolate was obtained from tobacco and could be distinguished by its ability to induce solid necrotic local lesions following mechanical inoculation on tobacco. Moreover, the systemic invasion of the plant was followed by severe necrosis and the plant top seemed to be ready to die. Recovery, however, always took place and the late symptoms were like those shown by plants infected with the ordinary strains of the virus.

Super mild

This isolate was obtained from a dahlia plant growing in a private ornamental garden. It had the property of inducing very mild symptoms on the mechanically inoculated Turkish tobacco leaves and practically no detectable

systemic or late symptoms. That systemic invasion took place could be verified by the fact that plants that had been inoculated with this isolate were fully protected against further inoculation with strains that induced severe symptoms. This super mild isolate was considered of great interest because it could be used to protect tobacco plantings against the damage resulting from infection by the ordinary strains of the virus. Unfortunately, this strain was lost and all efforts made so far to isolate it again have failed.

B. Cross protection tests

Cross protection tests between different isolates of the Brazilian tobacco streak virus were carried out by making use of the fact that infected plants present almost normal looking leaves at the recovery stage that contain virus and could, therefore, interfere with the establishment and increase of the challenging virus and so prevent the development of local lesions following inoculation of the latter.

Each of five isolates of the Brazilian tobacco streak virus was first inoculated on ten young Turkish tobacco plants. Fifteen tobacco plants from the same batch were kept uninoculated to serve as controls and receive only the challenging viruses. As soon as the inoculated plants reached the recovery stage, the ten plants that had received each isolate were divided in groups of two plants, and each pair was then superinoculated with the five isolates, separately. The plants that were kept as controls were inoculated at the same time, three individuals for each of the isolates.

Whereas the control plants showed numerous local lesions a few days after inoculation, none could be noticed on the plants that had been superinoculated at the recovery stage. This was considered evidence that cross protection between these isolates of the Brazilian tobacco streak virus was complete.

C. Protective effect of a super mild strain against further infection with severe strains

A preliminary test was carried out with greenhouse plants to determine the effect on yield of protecting them against severe strains of the virus.

Sixty uniform Turkish tobacco plants were used for this test. They were divided in two groups of 30 plants, one being inoculated with the super mild strain of the virus at an early stage. Twelve days later, 15 of these were superinoculated with a mixture of two severe strains of the virus. This mixture was also applied on 15 control plants. At this stage, there were 15 plants of each of the following treatments: (a) Non-inoculated controls; (b) control plants inoculated with the severe strains; (c) plants inoculated with the super mild strain only; and (d) plants that had been first protected with the super

mild strain and further inoculated with the severe strains. They were then divided in groups of three plants and randomized in the greenhouse so as to have five replications of three plants for each treatment.

The effect on yield of each treatment was judged by weighing the stems and leaves of the tobacco plants at maturity. The plant height was also measured. These results are presented in table 7. They indicate that tobacco plants infected with the super mild strain developed practically as well as the non-inoculated controls; the superinoculation of plants already infected with the super mild strain apparently had an effect on the plant as measured by its weight and height, although symptoms were not evident. The plants that received only the severe strains were stunted and yielded less than half when compared with the plants that had been protected.

Table 7

Results of a test to study the protective action of a super mild strain of the Brazilian streak virus against a mixture of two severe strains in tobacco tests plants

Treatment	Average of five replications	
	Weight of stem and leaves gm	Height of plant cm
Non-inoculated control	422.8	109.3
Super mild alone	421.0	111.5
Super mild + severe	375.0	89.3
Severe alone	160.8	69.7
LSD 5 %	70.5	20.0

IX. STUDIES ON VIRUS CONCENTRATION

It was previously reported (Costa 1952) that the concentration of the Brazilian tobacco streak virus in the leaves of affected plants varies considerably in relation to time after infection. In the inoculated leaves, as well as in the leaves that show systemic necrosis, virus concentration increases in the early stages of infection, reaches a peak, and then decreases as the leaves age. Recovered leaves also show a strong reduction in virus activity as they age.

X. DESCRIPTION OF THE BRAZILIAN STRAIN COMPLEX AS A NEW VARIETY

The similarity between the Brazilian and the American tobacco streak viruses and the diseases they cause has been discussed elsewhere (Costa 1945).

It is thought, however, that the strain complex occurring in São Paulo presents enough differences from the American virus to justify its naming as a new variety. Its description follows:

Annulus orae H. var. *florideformans* n. var. Virus responsible for the Brazilian tobacco streak disease. Distinguishable from the American virus for its tendency to induce late symptoms on tobacco and especially for its effect on the flowers, with split corollas and petals ending in filament-like appendage. Other species that show leaf and flower modifications: *Solanum nigrum, Lycopersicon esculentum, Nicandra physaloides,* several species of *Nicotiana,* and others.

Virus extremely labile in crude preparations, being inactivated rapidly in absence of a reducing system. Extracted in presence of 0.02 M sodium sulfite, activity was still present in preparations after 9 hours, but not after 27 hours. Some virus activity still present in preparations diluted to 5^{-6}. Thermal end point between 60 ° and 65 °C. Virus easily transmissible by mechanical methods. At high greenhouse temperatures, local necrotic lesions may appear on tobacco in less than 24 hours after inoculation. Vector of virus unknown. Widespread in the state of São Paulo, Brazil.

XI. DISCUSSION

The evidence obtained in the studies on the Brazilian tobacco streak virus is strongly indicative that this is closely related to the American tobacco streak virus group. Comparison of the two viruses under the same conditions would be desirable to establish the relationship between them, but has not seem advisable because it would imply in the introduction of a virus from abroad. Serological reactions would be of help in these studies as it was pointed out before (COSTA 1945).

From the typical tobacco streak virus as described from the United States (FULTON 1948, JOHNSON 1936, THOMAS and ZAUMEYER 1950), the Brazilian complex can be differentiated by its tendency to induce conspicuous leaf symptoms after a temporary recovery and because it induces flower symptoms on a number of host plants. FULTON (1948), however, described symptoms presented by plants of burdock *(Arctium minus* [Hill] Bernh.) infected with tobacco streak that resemble late symptoms shown by tobacco and other plants when infected with the Brazilian streak.

The disease caused by the Brazilian tobacco streak virus on soybean resembles closely that attributed to tobacco or tomato ring spot viruses in other places (ALLINGTON 1946, KAHN and LAITERELL 1955). As it was pointed out before (COSTA, MIYASAKA and D'ANDREA PINTO 1955), it is possible that in certain soybean growing areas where bud blight has been reported, tobacco streak may also, if present, be a factor in causing a bud-blight-like disease.

In the writers' opinion there is a closer relationship between the tobacco ring spot and tobacco streak viruses than it is generally accepted. The diseases caused by viruses of these two groups are generally similar and as to the in vitro properties, the tobacco streak virus group is distinct from the tobacco ring spot group for being more labile. In this respect the Brazilian tobacco streak virus group seems to be in a intermediate position between these two groups.

It is interesting to note that although in certain seasons the Brazilian tobacco streak virus is quite widespread in tobacco, cotton, soybean, and cover crops plantings, it has never been recorded in field tomatoes nor in field bean plantings.

It has been noted that variants of the Brazilian tobacco streak virus are obtained more frequently when the isolates are recovered from cotton than from tobacco. Since cotton plants are resistant to mechanical inoculation with this virus and frequently only local lesions are formed without further invasion, it is assumed that cotton plants are not a very good host plant and in them segregation or strain selection occurs more often.

The tendency of the Brazilian tobacco streak virus to affect the flowers of several of its host plants is one of its marked characteristics. The invasion of the flowers might lead to a partial sterility in tobacco and other plants. Under some conditions, greenhouse tomato plants infected with the Brazilian tobacco streak showed male sterility. Attempts to induce male sterility by means of this virus in field tomato plants have failed, but the possibility that a strain of this virus might be used to induce male sterility should not be overlooked.

The range of symptoms induced by the Brazilian tobacco streak virus is wide. It induces necrosis on tobacco and many other plants, green and yellow mosaic on cotton, and a golden type of mosaic on *Crotalaria paulina.*

Cross protection tests gave very clear-cut positive results with the various strains of Brazilian tobacco streak virus. Also, the use of a mild strain to protect greenhouse plants against further invasion by a mixture of two severe strains gave excellent results. It is highly probable that the same result could be obtained in the field if avoiding the damages induced by the disease compensated profitably the amount of work involved in the protection of the plants in the seedbeds or early in the field by means of inoculation with mild strains.

Summary

Brazilian tobacco streak is caused by a strain complex that is probably closely related to the American tobacco streak virus. The varietal name *Annulus orae* var. *florideformans* is proposed for the Brazilian complex because of its tendency to affect the flowers of various species.

The Brazilian tobacco streak virus is also the incitant of diseases of cotton, soybean, peanut, *Crotalaria* species, and various other plants. On soybean the disease caused by this virus is very similar to bud blight. Tomato and beans were infected with the virus in the greenhouse, but diseased plants of these species have not been recorded in the field yet.

Tobacco plants show recovery from the acute phase of the disease, but present late symptoms such as leaf malformation, split corolla, and presence of apiculum.

Seed transmission was tested for tobacco and cotton with negative results. The virus is easily transmitted mechanically and by grafting. The vector of the disease is not known yet.

The Brazilian tobacco streak virus is very labile, being inactivated rapidly in expressed plant juice. In presence of a reducing substance, such as sodium sulfite, virus preparations were still active after 9 hours, but not after 27 hours. The virus stood dilutions of 5^{-6}, but not 5^{-7}. It was still active in preparations heated at 60 °C, but not in those treated at 65 °C.

Strains of the virus are easily isolated from cotton and other plants. Four distinctive strains are briefly described. Cross protection tests between strains of the Brazilian streak virus always gave positive results.

Zusammenfassung

Untersuchungen über die brasilianische Tabakstrichelkrankheit

Die brasilianische Tabakstrichelkrankheit wird durch einen Stammkomplex verursacht, der dem amerikanischen Tabakstrichelvirus nahe steht. Der Sortenname *Annulus orae* var. *florideformans* wird für diesen Komplex vorgeschlagen, da die Mehrzahl der Stämme dieses Virus Anomalien der Blüte der Tabak- u. a. Wirtspflanzen hervorruft.

Krankheiten der Baumwoll-, Sojabohnen-, Erdnuß-, Crotalariaarten u. a. Pflanzen werden durch das brasilianische Tabakstrichelvirus hervorgerufen. Die auf Sojabohnen durch das Tabakstrichelvirus hervorgerufene Krankheit ist der Soja „bud blight" sehr ähnlich. Tomaten- und Bohnenpflanzen sind im Gewächshaus anfällig, aber im Feld wurden kranke Pflanzen dieser zwei Arten noch nicht beobachtet.

Eine Gesundung der befallenen Tabakpflanzen findet immer statt, aber Blättermißbildungen, getrennte Blumenkrone und Anwesenheit einer Wimper an den Extremitäten der Blumenblätter treten als spätere Symptome auf.

Übertragung des Virus durch die Samen aus kranken Tabak- und Baumwollpflanzen fand nicht statt. Mechanische Übertragung des Virus sowie die Übertragung durch Pfropfung gelingen leicht. Übertragungsversuche mit verschiedenen Insekten- und Milbenarten verliefen negativ.

Das brasilianische Tabakstrichelvirus ist sehr labil. Im Preßsaft wird das Virus sehr schnell inaktiviert. Unter Zusatz reduzierender Agenzien während

der Auspressung bleibt das Virus im Preßsaft während 9 Stunden, aber nicht 27 Stunden aktiv. Die Verdünnungsgrenze des Virus im Preßsaft liegt zwischen 5^{-6} und 5^{-7}. Virusaktivität war noch im Preßsaft vorhanden, der auf 60 °C während 10 Minuten erhitzt wurde, aber nicht, wenn er bei 65 °C behandelt wurde.

Verschiedene Stämme des Virus sind aus Baumwoll- und anderen Pflanzen leicht zu erhalten. Vier Stämme wurden kürzlich beschrieben. Prämunitätsversuche mit verschiedenen Stämmen des brasilianischen Tabakstrichelvirus verliefen immer positiv.

Literature cited

Allington, William B., 1946: Bud blight of soybean caused by the tobacco ringspot virus. Phytopathology **36**, 319—322.

Berkeley, G. H., and J. H. H. Phillips, 1943: Tobacco streak. Canad. J. Res. Sect. C, **21**, 181—190.

Costa, A. S., 1945: The relationship between American tobacco streak and Brazilian "necrose branca" or "couve". Phytopathology **35**, 1029—1030.

— —, 1950: *Beta patellaris*, planta-teste para o vírus da necrose branca do fumo. Bragantia **10**, 275—276.

— —, 1952: Concentration of Brazilian tobacco streak virus in infected plants. Phytopathology **42**, 231—236.

— —, 1955: Studies on Abutilon mosaic in Brazil. Phytopath. Z. **24**, 97—112.

— —, 1957: Feijoeiro Manteiga, planta-teste para os vírus de vira-cabeça e da necrose branco do fumo. Bragantia **16**, 45—64.

— —, A. J. D'Andrea Pinto and Oswaldo S. Neves, 1954: Um mosaico do algodoeiro causado pelo vírus da necrose branca do fumo. Bragantia **13**, I—III.

— —, A. R. Lima & R. Forster, 1939: Necrose branca — uma moléstia de vírus do fùmo (*Nicotiana tabacum* L.) e "fumo couve" como sintoma tardio. J. Agron., Piracicaba **3**, 1—25.

— —, Shiro Miyasaka, and A. J. D'Andrea Pinto, 1955: Queima dos brotos da soja, uma moléstia causada pelo vírus da necrose branca ou couve. Bragantia **14**, VII—X.

Diachum, Stephen, and W. D. Valleau, 1950: *Nicotiana rustica* as a source of tobacco streak virus. Phytopathology **40**, 128—134.

Fulton, Robert W., 1948: Hosts of the tobacco streak virus. Phytopathology **38**, 421—428.

— —, 1949: Virus concentration in plants acquiring tolerance to tobacco streak. Phytopathology **39**, 231—243.

Gigante, Roberto, 1952: Osservazioni sulla "Farfara" del tabacco in Provincia di lecce. Bol. Staz. Pat. Veg., Roma **10**, 71—108.

Hildebrand, A. A., and L. W. Koch, 1947: Observations on bud-blight of soybeans in Ontario. Sci. Agric., Ottawa, **27**, 314—321.

Jochems, S. C. J., 1930: Twee nieuwe vierusziekten bij Deli-Tabak (Ringvlekziekte en nerfstreep). Deli Proefst. Medan, Sumatra Bull. **30**, 1—24.

Johnson, James, 1936: Tobacco streak, a virus disease. Phytopathology **26**, 285—292.

Kahn, Robert P., and Frances M. Latterell, 1955: Symptoms of bud-blight of soybeans caused by the tobacco- and tomato-ringspot viruses. Phytopathology **45**, 500—502.

Price, W. C., and S. B. Fenne, 1951: Tomato rosette, a severe disease caused by a strain of tobacco mosaic virus. Phytopathology **41**, 1091—1098.

Thomas, H. R., and W. J. Zaumeyer, 1950: Red node, a virus disease of beans. Phytopathology **40**, 832—846.

Valleau, W. D., and E. M. Johnson, 1932: Tobacco diseases in Kentucky. Kentucky Agric. Expt. Stat. Bull. **328**, 111—154.

Aus dem College of Agriculture and Research Institute, Potchefstroom, Union of South Africa

Die Konzentrationsbestimmung von Penicillin und Streptomycin in Tomatenpflanzen

Von

W. Krüger[1])

Mit 3 Abbildungen

EINLEITUNG

In einer früheren Arbeit (Krüger 1957) wurde gezeigt, daß eine antibiotische Substanz im Saft von Tomatenpflanzen die Wirkung von Streptomycin gegen bestimmte Bakterien (*Bacillus pumilus, Bacillus subtilis*) steigerte. Das Bakterium der Wahl war *Escherichia coli*/Typ III, das auf diesen Synergismus zwischen Streptomycin und dem natürlich anwesenden antibiotischen Faktor nicht reagierte.

Ähnliche Schwierigkeiten wurden mit Penicillin und anderen neueren Antibiotika erfahren. Die Bestimmung des aktiven Penicillinanteiles wurde durch die Tatsache erschwert, daß keines der geprüften Bakterien eine Resistenz gegen den antibiotischen Faktor aufwies. Es wurde daher der Versuch unternommen, diese Schwierigkeit dadurch zu überbrücken, daß gegen den antibiotischen Faktor sensitive Bakterien verwendet wurden, wobei die Standardlösungen nicht mit Penicillin in Wasser, sondern in Saft gelöst, aufgestellt wurden. Theoretisch sollte diese Methode vergleichbare Werte liefern, weil der antibiotische Faktor sowohl in den Testpflanzen als auch in der Standardreihe vorhanden ist. Die bei der Analyse erhaltene Konzentration sollte der aktiv gebliebenen Antibiotikamenge in der Pflanze entsprechen.

METHODEN

Tomaten der Varietät „Hugo" wurden im Gewächshaus gezogen, bei einer Höhe von zirka 15 cm ausgetopft, ihre Wurzeln gewaschen und dann für sechs Stunden mit diesen in Antibiotikalösungen oder Wasser gestellt.

1) Anschrift des Verfassers: Kiel, Blücherplatz 1 — Deutschland.

Wurzeln, Stengel und Blätter wurden nach der Behandlung oder nach einer gesetzten Periode mittels einer kleinen Handpresse getrennt ausgepreßt. Der Saft wurde innerhalb einer Stunde in je zwei Löcher von Agarplatten pipettiert, die vorher mit den Bakterien beschickt worden waren (KRÜGER 1959).

Um die Konzentration der Antibiotika im Saft zu bestimmen, mußten die gebildeten Hemmzonen mit Standardzonen verglichen werden, die durch Streptomycin oder Penicillin bekannter Konzentrationen verursacht wurden. Die Standardreihen wurden mit a) Wasser = Wasserreihe, b) Saft- = Saftreihe von i) Stengeln und ii) Blättern als Lösungsmittel aufgestellt. Die Antibiotika wurden sowohl in Wasser als auch in Saft gelöst, um eine Steigerung oder Depression des Antibiotikaeffektes durch Saft zu bestimmen. Die folgenden Bakterien fanden Verwendung:

	Bebrütung bei °C:
1. Penicillin-sensitiv:	
Escherichia coli/Typ III	33
Bacillus pumilus	29
Bacillus subtilis/ATCC 9524	29
Sarcina lutea/ATCC 9341	29
Staphylococcus aureus/ATCC 6538 P, str. 209 P	35
2. Streptomycin-sensitiv:	
Escherichia coli/Typ III	33
Sarcina lutea/ATCC 9341	29
Bacillus pumilus	29

ERGEBNISSE

1) Penicillin-Bestimmung

Die Standardreihen wurden mit den folgenden Konzentrationen angelegt: 200, 100, 75, 50, 40, 30, 20, 15, 10, 7,5, 5, 4, 3, 2, 1, 0,75, 0,5, 0,25, 1,0, 0,075, 0,05 und 0,00 E/ml.

In einem ersten Versuch waren die Hemmzonen der wäßrigen Standardreihe vom gleichen Durchmesser oder etwas größer als die der Saftreihe, wenn Konzentrationen über 50 E/ml zugefügt worden waren und wenn *E. coli* als Testorganismus diente. Wurden *B. pumilus, B. subtilis, S. lutea* und *S. aureus* verwendet, dann übertrafen die Hemmradien der Saftreihe immer die des wäßrigen Standards, wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist. Das bedeutete, daß die erwähnten Bakterien auf einen Synergismus zwischen Penicillin und dem natürlich anwesenden Inhibitor reagierten.

In einem weiteren Versuch wurde derselbe Trend beobachtet, aber eine Adsorption von Penicillin durch den Saft wurde mehr offenbar. Die Hemmradien der Saftreihe waren kleiner als die durch wäßrige Penicillinlösungen verursachten. Das traf aber nur bei den hohen Konzentrationen zu. Die Ursache dieses Aktivitätsrückganges bei hohen Konzentrationen kann einer Ad-

sorption zugeschrieben werden, die dadurch sichtbar wurde, daß die Diffusion des natürlichen Hemmstoffes in den Agar vielleicht begrenzt war.

Trotz des synergistischen Effektes, der am markantesten bei niedrigen Konzentrationen zu beobachten war, sollte der aktive Penicillingehalt in Pflanzen zu bestimmen sein, wenn die von den Testpflanzen hervorgerufenen Hemmhöfe mit solchen verglichen werden, die durch Penicillin in Saft gelöst, verursacht wurden. Die Abbildung 2 mag zur näheren Erläuterung des Dargelegten dienen.

Drei Kurven sind gezeichnet worden, wie sie bei Verwendung verschiedener Lösungsmittel erhalten werden können. Soll z. B. die Konzentration für eine Hemmzone von 6,5 mm bestimmt werden, so muß dieser Wert in einer Konzentrations/Wirkungskurve interpoliert werden. Wird eine Verdünnungsreihe mit Wasser als Lösungsmittel verwendet, dann resultiert eine Konzentration von 3,6 E/ml (Kurve 2). Dient Saft mit synergistischem Effekt als Lösungsmittels, dann werden 1,7 E/ml erhalten (Kurve 1). Findet eine Adsorption des Antibiotikums durch Saft statt, und wird die daraus resultierende Kurve (Kurve 3) zum Vergleich benutzt, dann ergibt die Interpolation einen Wert von 9,5 E/ml.

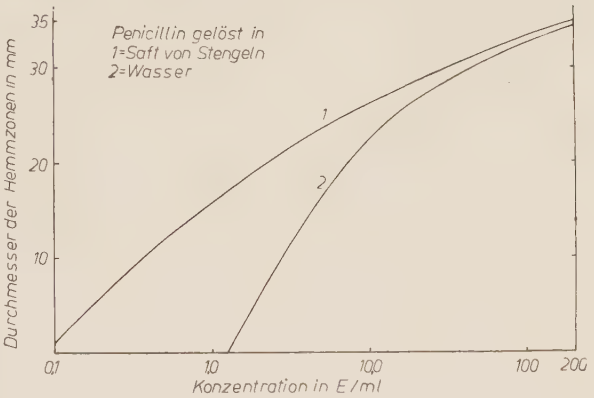


Abb. 1. Einfluß von Pflanzensaft auf die Aktivität von Pencillin (*Bacillus pumilus* = Testorganismus)

Es kann somit gefolgert werden, daß bei Vorhandensein von Synergismus Saft und nicht Wasser als Lösungsmittel für die Standardreihe zu verwenden ist. Würde die Wasserreihe für die Berechnung zugrunde gelegt werden, dann würden zu hohe Konzentrationen die Folge sein. Hat jedoch eine Adsorption des Antibiotikums stattgefunden, so sollte die Saftreihe nicht als Basis dienen. Die berechneten Werte werden in diesem Falle zu hoch sein und den aktiven

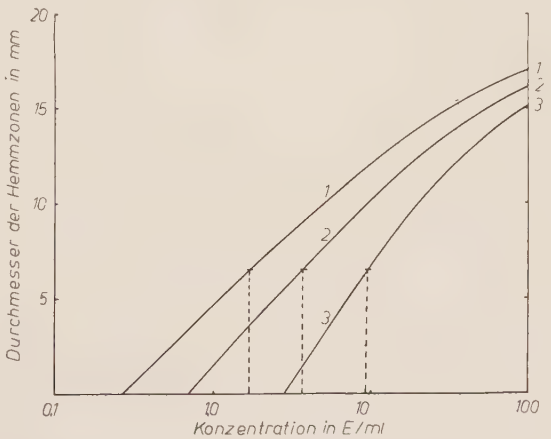


Abb. 2. Schematisch dargestellte Konzentrations/Wirkungs-Kurven eines Antibiotikums, gelöst in 1. Saft mit synergistischem Effekt, 2. Wasser und 3. Saft mit Adsorptionseigenschaften

und den adsorbierten Anteil des Antibiotikums angeben. Die aktive Antibiotikamenge wird durch Interpolation des Durchmessers, der auf E/ml umzurechnenden Hemmzone, auf einer Kurve der Standardreihe mit Wasser als Lösungsmittel erhalten.

Die von den Hemmradien der zuerst erwähnten Verdünnungsreihe gezogenen Kurven, mit denen Adsorption oder Aktivitätssteigerung bestimmt worden war, dienten ebenfalls zur Berechnung der Penicillinkonzentration in Pflanzen, die mit einer 200 E/ml Lösung behandelt worden waren. Zwei Tage nach der Applikation fand die Analyse statt. Vier Pflanzen wurden zu einer Probe vereinigt, um genügend Material zur Beschickung der mit verschiedenen Bakterien beimpften Agarplatten zu haben. Sechs Pflanzen fanden je Konzentration und Bakterium Verwendung. Die durch den Saft a) behandelter und b) unbehandelter Pflanzen hervorgerufenen Hemmradien sind in Tabelle 1 zusammengetragen.

Tabelle 1

Durchmesser der Hemmzonen in Millimeter, verursacht durch Saft a) behandelter und b) unbehandelter Pflanzen

(Mittelwert von sechs Wiederholungen)

Pflanzenteil	Testbakterien				
	E. coli	*B. subtilis*	*S. lutea*	*S. aureus*	*B. pumilis*
a) Behandelte Pflanzen					
Wurzeln	0,0	12,1/17,0[1]	0,0	0,0[3]	16,3
Stengel	12,0	33,6	37,0	29,9	27,4
Blätter	26,2	41,8	44,4	40,1	36,6
b) Unbehandelte Pflanzen					
Wurzeln	0,0	16,9[1]	0,0	0,0	16,1[1]
Stengel	0,0	0,0[3]	0,0[3]	0,0	0,0
Blätter	0,0	16,7	0,0[3]	14,1	16,0[2]

[1]) Unvollständige Hemmung.

[2]) Nicht der Saft aller Pflanzen verursachte Hemmung.

[3]) Nicht meßbare Hemmung.

Die in der Tabelle angeführten Hemmzonen lassen die Aufnahme von Penicillin durch die Pflanzen, die Sensitivitätsunterschiede der Bakterien gegen Penicillin und die antibiotische Wirkung des Saftes gegen *B. pumilus*, *B. subtilis* und *S. aureus* erkennen. Es kann somit gefolgert werden, daß ein antibiotischer Faktor in Tomaten zu finden ist und zwar bevorzugt in den Wurzeln und Blättern. Inwieweit dieser Faktor die Aktivität von Penicillin beeinflußt, kann durch Umrechnung des Hemmzonendurchmessers in die entspre-

chende Konzentration erfolgen. Die Ergebnisse der Umrechnung sind in Tabelle 2 angegeben.

Die mit mehreren Bakterien mit der Saftreihe als Basis in den Stengeln berechneten Konzentrationen stimmten im ersten wie im zweiten Versuch gut überein (Tab. 2). Die Werte lagen beim ersten Versuch um 5,1 und beim zweiten um 7,2 E/ml. Der mit *S. lutea* beim ersten Versuch erhaltene Wert von 7,2 E/ml war etwas hoch.

Wurde die wäßrige Verdünnungsreihe für eine Umrechnung zugrunde gelegt, dann variierten die Werte beträchtlich, was durch die unterschiedliche Reaktion der Bakterien auf den Synergismus zu erklären ist. *E. coli* wurde beim ersten Versuch durch den Synergismus am wenigsten beeinflußt, und die erhaltenen Werte der Saft- zu denen der Wasserreihe standen im Verhältnis wie 1 : 1,7. Dieses Verhältnis war für die anderen Bakterien größer und betrug mehr als 1 : 2,0 und mit *B. pumilus* sogar 1 : 3,4 (Tab. 3).

Tabelle 2

Errechneter Penicillingehalt in E/ml von Tomatenpflanzen, die für 6 h mit einer 200-E/ml-Lösung behandelt waren, in Anhängigkeit von Testbakterien und Art des Lösungsmittels der Standardreihen

Testorganismen	Analysierter Pflanzenteil			
	Stengel		Blätter	
	Saftreihe	Wasserreihe	Saftreihe	Wasserreihe
1. Versuch				
Escherichia coli	4,9	8,5	61,5	62,3
Bacillus subtilis	4,9	11,7	91,8	102,3
Bacillus pumilus	4,1	14,0	87,8	100,0
Staphylococcus aureus	4,6	10,2	92,1	120,6
Sarcina lutea	7,2	15,8	66,0	72,1
t_{min} 95 % zwischen Saft- und Wasserwerte =	2,9		2,5	
t_{min} 95 % zwischen verschiedenen Bakterien der Saft- oder Wasserserie =	2,8	2,8	17,3	17,3
2. Versuch				
Escherichia coli	6,5	11,0	119,0	114,8
Bacillus subtilis	5,6	8,8	98,3	112,1
Bacillus pumilus	8,7	17,5	129,1	112,5
Staphylococcus aureus	8,9	13,5	270,0	174,2
Sarcina lutea	6,6	11,8	81,7	77,0
t_{min} 95 % =	3,0	3,0		

Im zweiten Versuch waren die Diskrepanzen weniger ausgeprägt und werden auf die schon erwähnte stärkere Adsorption von Penicillin durch Saft zurückgeführt. Die Unterschiede der Werte, berechnet mit der Saft- und Wasserreihe, waren für *B. pumilus* wieder am größten, wie aus Tabelle 3 ersichtlich.

Die Penicillinbestimmung in den Blättern brachte ähnliche Resultate (Tab. 2), aber die errechneten Konzentrationen waren nicht so gleichmäßig, wenn die Saftreihe als Basis diente. Die Konzentrationen mit *E. coli* und *S. lutea* als Testorganismen waren etwas niedriger als die mit *B. subtilis, B. pumilus* und *S. aureus* errechneten.

Ein Grund für die Diskrepanz mag in den sehr großen Hemmradien gesucht werden, die sich durch diese Konzentrationen ergaben. Eine geringe Steigerung des Durchmessers bedeutete eine große Zunahme in E/ml, weil der Verlauf der Kurve bei hohen Konzentrationen sehr flach war. Bei 0,5 E/ml bedingte z. B. eine Zu- oder Abnahme des Radius um einen Millimeter eine Zu- oder Abnahme von zirka 0,09 E/ml. Bei 5 E/ml betrug dieser Wert schon 1,9 E/ml und bei 50 E/ml aber mehr als 25 E/ml. Das offenbart eine sehr geringe Sensitivität der Methode bei hohen Konzentrationen. Wenn dieses zur Beurteilung mit in Betracht gezogen wird, dann dürften die Ergebnisse noch als mäßig übereinstimmend betrachtet werden.

Tabelle 3

Verhältnis der Werte
der „Saft"- zu denen der „Wasser"reihe = 1

Testorganismus	Penicillin gelöst in Saft von			
	1. Versuch		2. Versuch	
	Stengeln	Blättern	Stengeln	Blättern
Escherichia coli	1,74	1,01	1,69	0,96
Bacillus pumilus	3,44	1,11	2,01	0,87
Bacillus subtilis	2,35	1,06	1,57	1,14
Staphylococcus aureus	2,22	1,32	1,69	0,74
Sarcina lutea	2,19	1,08	1,79	0,94

Wurde die wäßrige Standardreihe als Basis für eine Berechnung herangezogen, so waren die Werte mit *E. coli* als Bezugsbakterium nahezu gleich den mit der Saftreihe errechneten. Dieses muß der geringen Wirkung des synergistischen Effektes bei hohen Konzentrationen zugeschrieben werden, wie aus Abbildung 3 ersichtlich. Die anderen Bakterien ergaben höhere Werte mit größeren Unterschieden.

Die Differenzen zwischen den mit der Saft- und Wasserreihe errechneten Werten traten bei der Analyse der Stengel nicht so hervor (Tab. 3).

Auch hier dürfte der Grund in dem weniger markanten Synergismus liegen.

In einem zweiten Versuch wurde ein höherer Penicillingehalt in den Pflanzen gefunden und mit vier Bakterien war kein Synergismus wahrzunehmen, sondern sogar eine geringe Adsorption von Penicillin. Die Werte waren daher, mit Ausnahme von *B. pumilus*, etwas niedriger, wenn die Wasserreihe als Basis der Kalkulation benutzt wurde.

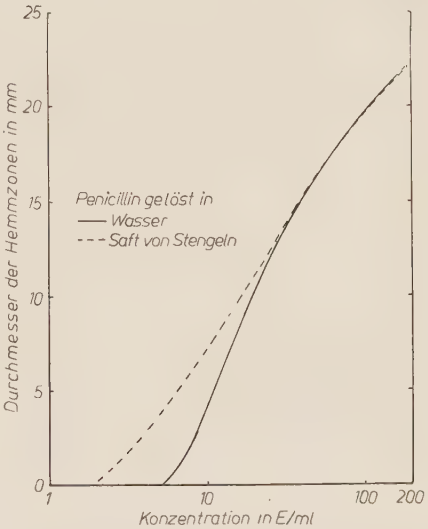


Abb. 3. Der Einfluß von Pflanzensaft auf die Aktivität von Pencillin mit *Escherichia coli* als Testbakterium

Entsprechend dem oben dargelegten, muß aber die Konzentration gemäß der Anwesenheit von Synergismus oder Adsorption in den Standardlösungen bestimmt werden. Die in Tabelle 2 unter „Saft"- und „Wasserreihe" gegebenen Werte des zweiten Versuches bedürfen daher einer Revision. Während für *E. coli*, *B. pumilus*, *S. lutea* und *S. aureus* die mit der Wasserreihe erhaltenen Werte maßgebend sind, muß für *S. subtilis* der Wert der Saftreihe eingesetzt werden. Folgende Konzentrationen wurden gemäß dieser Anordnung in den Blättern gefunden:

Testorganismen:	Konzentration in E/ml
E. coli	115
B. subtilis	93
B. pumilus	113
S. lutea	77
S. aureus	174

Mit Ausnahme des mit *S. aureus* erhaltenen Wertes stimmten die anderen mäßig überein. Die in den beiden Versuchen aufgetretenen Unterschiede im Grad der Adsorption von Penicillin und der Stärke des Synergismus, wenn Saft von Blättern mit Penicillin beschickt wurde, zeigten die variierende Anwesenheit des synergistischen Faktors und auch der adsorbierenden Kräfte des Saftes.

2) Streptomycin-Bestimmung

Über Synergismus zwischen Streptomycin und einem natürlich anwesenden antibiotischen Faktor in Tomatenpflanzen wurde schon früher berichtet (Krüger 1957). Die vorhandene aktive Streptomycinmenge wurde mit dem nicht sensitiven Bakterium *E. coli* bestimmt. Ob mit sensitiven Organismen

ebenfalls vergleichbare Ergebnisse erhalten werden können, wie bei der Penicillinanalyse gezeigt wurde, sollte für Streptomycin auch geprüft werden. Die Methoden waren dieselben wie bei Penicillin. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4

Berechnete Streptomycinkonzentration in E/ml von Tomatenpflanzen, die 6 h in einer 200-E/ml-Lösung gestanden hatten, in Abhängigkeit von Testbakterien und Art des Lösungsmittels der Standardreihe[1])

Testorganismus	Analysierter Pflanzenteil			
	Stengel		Blätter	
	Wasserreihe	Saftreihe	Wasserreihe	Saftreihe
Escherichia coli	85	103	130	154
Sarcina lutea	167	67	253	147
Bacillus pumilus	240	77	318	127

[1]) Mittelwert von 6 Wiederholungen.

Aus der Tabelle kann entnommen werden, daß die mit der Saft- und Wasserreihe als Basis errechneten Werte keine Übereinstimmung zeigten. *S. lutea* und *B. pumilus* sprachen auf Synergismus an, während *E. coli* nicht reagierte und eine Adsorption von Streptomycin offenbarte.

Werden die in Tabelle 4 gegebenen Werte aber entsprechend der Reaktion auf Synergismus und Adsorption angegeben, so wurden mit den verschiedenen Bakterien folgende Konzentrationen in E/ml erhalten:

	Stengel	Blätter
E. coli	85	130
S. lutea	67	147
B. pumilus	77	127

Auch diese Werte stimmten gut überein. Das traf sowohl für die Analyse der Stengel als für die der Blätter zu.

BESPRECHUNG

Aus den Ergebnissen der Versuche kann gefolgert werden, daß bei der Hemmung gewisser Organismen durch Tomatensaft die Pflanzen eine antibiotisch wirkende Substanz enthalten. Diese Substanz kann aber auch die Wirkung einer anderen (Antibotikum) erhöhen. Ob dieser inhibierende Faktor mit einem der früher beschriebenen Antibiotika (GOTTLIEB 1943, CONNER 1945, IRVING, FONTAINE u. DOOLITTLE 1945, 1946, FONTAINE, IRVING, MA u. DOOLITTLE 1948) identisch ist, kann noch nicht entschieden werden.

Die Möglichkeit einer Identität kann in Betracht gezogen werden, weil über einen Synergismus zwischen pflanzeneigenen Antibiotika und solchen

mikrobiellen Ursprunges berichtet worden ist (Gupta u. Vismanathan 1955). Weit mehr ist aber der Synergismus zwischen Antibiotika mikrobieller Bildung bekannt, wie in der Humanmedizin und auch in der Pflanzenpathologie bekannt ist (Klein 1957, McNew 1956).

Wie gezeigt wurde, war der Synergismus von den Testbakterien abhängig. Außer den genannten Bakterien waren auch *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans* und *Corynebacterium michiganense* gegen den antibiotischen Faktor sensitiv. Diese Sensitivität hat natürlich nur für Tomatensaft Gültigkeit.

Außer Synergismus wurde eine Adsorption der Antibiotika durch Pflanzensaft beobachtet. Diese Adsorption der Antibiotika scheint weit verbreitet zu sein und kann dort erwartet werden, wo organische Substanz und auch mehrwertige Kationen vorhanden sind wie in der Körperflüssigkeit (Klein 1957), in der Milch (Price, Zolli, Atkinson u. Luther 1957), im Boden (Witkamp u. Starkey 1956) und in Pflanzen.

Es ist schwer zu bestimmen, wie sich Synergismus und Adsorption beeinflussen, wenn beide zusammen vorkommen. Bei niedrigen Konzentrationen überwog Synergismus, während Adsorption bei hohen zu beobachten war. Es scheint, als ob die Diffusionskapazität des antibiotischen Faktors begrenzt ist. Andernfalls sollte die Adsorption durchgehend vom Synergismus überdeckt bleiben.

Weil der antibiotische Faktor nur gegen einige Bakterien wirksam ist, können für die Bestimmung des aktiven Antibiotikagehaltes Bakterien verwendet werden, die nicht sensitiv sind. In dem Falle muß eine Standardlösung bekannter Konzentration in Wasser hergestellt werden.

Findet sich kein geeignetes resistentes Bakterium, dann können ebenfalls gute quantitative Analysen erreicht werden, wenn die Standardreihe mit Saft von Pflanzen desselben Alters als Lösungsmittel zum Vergleich herangezogen wird. Beide Methoden liefern relativ vergleichbare Resultate, jedoch erfordert die zuletzt genannte wesentlich mehr Arbeitsaufwand und viel Pflanzenmaterial zur Gewinnung des Saftes für die Verdünnungsreihen.

Auf Grund der Resultate wird in künftigen Versuchen für die Bestimmung von Streptomycin und Penicillin *E. coli* verwendet werden. Obwohl *E. coli* gegen Penicillin relativ resistent ist, ist es einfacher, dieses Bakterium zu wählen. Sind geringe Penicillinmengen zu erwarten, dann wird der arbeitsreichere Weg über die Verdünnungsreihen mit Saft als Lösungsmittel und *B. pumilus* oder *S. lutea* als Testbakterium eingeschlagen werden müssen.

Zusammenfassung

1. Infolge der Anwesenheit von Bakterien hemmenden und Antibiotika adsorbierenden Substanzen im Saft von Tomatenpflanzen war die biologische Methode, um den aktiven Anteil von Streptomycin und Penicillin in Pflanzen zu bestimmen, noch nicht vollkommen. Die Erscheinung einer Bakterienhemmung, die sogar die Form eines Synergismus zwischen Hemmstoff und Streptomycin und Penicillin annahm, war von den Testbakterien abhängig.

2. Alle verwendeten Bakterien wurden stärker gehemmt, wenn Penicillin bis zu einer Konzentration von zirka 50 E/ml in Saft von Tomaten gelöst wurde.

3. Wurde Saft von Stengeln Penicillin-behandelter Pflanzen mit verschiedenen Bakterien auf aktiven Antibiotikagehalt analysiert, dann resultierten nahezu dieselben Werte in E/ml, wenn eine Standardreihe zum Vergleich diente, in der Penicillin in Saft diluiert worden war. Wurde die Wasserreihe als Grundlage der Umrechnung verwendet, so waren höhere Penicillinkonzentrationen die Folge.

4. Eine Analyse des Saftes von Blättern lieferte ähnliche Ergebnisse. Die Unterschiede zwischen den mit der Saft- und der Wasserreihe als Basis errechneten E/ml-Werten war nicht so ausgeprägt wie bei der Stengelanalyse, was auf den weniger markanten Synergismus zurückzuführen ist. Mitunter wurde sogar eine Adsorption von Penicillin durch Saft beobachtet.

5. Für die Bestimmungen des aktiven Penicillinanteiles sollten Bakterien verwendet werden, die gegenüber dem Synergismus unempfindlich sind. In dem Falle können Vergleichslösungen mit Wasser als Lösungsmittel aufgestellt werden.

6. Die Bestimmung von Streptomycin in Pflanzen ergab mit verschiedenen Testorganismen ähnliche Werte, wenn entsprechend dem Synergismus oder der Adsorption die Saft- oder Wasserreihe für die Berechnung zugrunde gelegt wurde. *E. coli* wurde als das geeignetste Bakterium ausgewählt.

Summary

Determination of the concentration of penicillin and streptomycin in tomato plants

1. In consequence of the presence of substances that inhibit bacteria and adsorb antibiotics in the sap of tomato plants, the biological method of determining the active content of streptomycin and penicillin in plants was still not perfect. The occurrence of bacterial inhibition, which even took the form of a synergism between the inhibitory substance and streptomycin or penicillin, depended on the test bacteria.

2. All the bacteria employed were inhibited more strongly when penicillin was dissolved in tomato sap at a concentration of roughly 50 E/ml.

3. When sap from the stems of plants treated with penicillin was analysed for active antibiotic content with different bacteria, approximately the same values in E/ml were obtained, when a standard series in which penicillin was diluted in sap was used for comparison. When an aqueous series was taken as a basis of the calculation higher penicillin concentrations resulted.

4. An analysis of the sap from leaves gave similar results. The difference between sap and the aqueous series as a basis for the calculation of E/ml values was not so great as in the stem analysis, which is attributed to the less

pronounced synergism. In fact even an adsorption of penicillin by the sap was observed.

5. For the determination of the active penicillin content bacteria should be used which are not susceptible to synergism. In this case solutions with water as a solute can be employed for the comparisons.

6. The determination of streptomycin in plants gave similar values with different test organisms when, according to the occurrence of synergism or adsorption the sap or aqueous series were used as a basis for the calculation. *E. coli* was chosen as the most suitable bacterium.

Literaturverzeichnis

Conner, J. W., 1945: The bacterial flora of low-acid vegetables canned at 212 °F. II. A preliminary study of the effect of extracts from processed tomato juice and from tomato plants on bacteria involved in food preservation. Canad. J. Res. (F) **24**, 467—473.

Fontaine, T. D., G. W. Irving, R. Ma, J. B. Poole, and S. P. Doolittle, 1948: Isolation and partial characterisation of crystalline tomatine, an antibiotic agent from the tomato plant. Arch. Biochem. **18**, 467—475.

Gottlieb, D., 1943: Expressed sap of tomato plants in relation to wilt resistence. Phytopathology **33**, 1111.

Gupta, K. G., and R. Vismanathan, 1955: Combined action of streptomycin and chloramphenicol with plant antibiotics against tubercle bacilli. I. Streptomycin and chloramphenicol with cepharantine. II. Streptomycin and allicin. Antibiotics & Chemotherapy **5**, 24—27.

Irving, G. W. jr., T. D. Fontaine, and S. P. Doolittle, 1945: Lycopersicin, a fungistatic agent from the tomato plant. Science **102**, 9—11.

— —, 1946: Partial antibiotic spectrum of tomatin, an antibiotic agent from the tomato plant. J. Bact. **52**, 601—607.

Klein, P., 1957: Bakteriologische Grundlagen der Chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

Krüger, W., 1957: Die Beeinflussung des biologischen Streptomycinnachweises bei Tomaten durch ein dortselbst vorkommendes Antibiotikum. Verh. IV. Intern. Pflanzensch.-Kongreß, Hamburg 1957. Bd. **2**, 1595—1600 (Braunschweig).

McNew, G. L., 1956: Crop usage. Proc. 1st. Intern. Conf. Use of Antibiotics in Agric., Washington (1956) 190—191.

Price, K. E., Z. J. Zolli, J. C. Atkinson, and H. G. Luther, 1957: Antibiotic inhibitors. I. The effect of certain milk constituents. Antibiotics & Chemotherapy **7**, 672—688.

Witkamp, M., and R. L. Starkey, 1956: Tests of some methods for detecting antibiotics in soil. Proc. Amer. Soil Sci. Soc. **20**, 500—504.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Fusarium redolens Wr., seine Morphologie und systematische Stellung. Ein Beitrag zur Kenntnis der *Elegans*-Fusarien

Von

W. Gerlach

Mit 6 Abbildungen

Die *Fusarium*-Sektion *Elegans* wurde 1935 von Wollenweber und Reinking (13) mit 10 Arten, 18 Varietäten und 12 Formen aufgeführt. Snyder und Hansen (10) haben 1940 die gesamte Sektion zu einer einzigen Sammelart — *F. oxysporum* Schl. em. Snyd. et Hans. — zusammengefaßt. Gewiß sind die *Elegans*-Fusarien eine morphologisch verhältnismäßig einheitliche Gruppe, viele von ihnen einander sehr ähnlich und manche Isolierungen selbst für den, der über besondere Erfahrungen verfügt, oft nur durch Feinheiten in Reinkultur voneinander zu unterscheiden. Zweifellos haben auch Wollenweber (12) sowie Wollenweber und Reinking (13) geringe morphologische Unterschiede zur Trennung von systematischen Einheiten überbewertet und die Unterscheidung von Arten bzw. Varietäten auf Grund morphologischer Merkmale und die von spezialisierten Formen auf Grund ihrer biologischen Spezialisierung nicht konsequent durchgeführt. Trotzdem dürfte das Vorgehen von Snyder und Hansen, das die Bestimmung von *Elegans*-Fusarien für viele ohne Zweifel wesentlich vereinfacht hat, den morphologischen und biologischen Verhältnissen in dieser Gruppe nicht gerecht werden (vgl. Gerlach, Sauthoff und Pag 4). Auch wenn sich besonders in den USA die Auffassung von *F. oxysporum* Schl. im Sinne von Snyder und Hansen weitgehend eingebürgert hat, so ist doch ausreichendes Beweismaterial für die Berechtigung, die Sektion *Elegans* zu einer einzigen Art zusammenzuziehen, bisher weder von den beiden Autoren noch von anderen vorgelegt worden.

Im hiesigen Institut sind — nicht zuletzt aus den genannten Gründen — vor einigen Jahren die Untersuchungen über Morphologie und Biologie von *Elegans*-Fusarien wieder aufgenommen worden[1]). Insgesamt wurden hier bisher über 500 Stämme — pathogene sowie apathogene — von vielen Wirts-

[1]) Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die für diese Untersuchungen Mittel zur Verfügung gestellt hat, sei auch an dieser Stelle dafür gedankt.

pflanzenarten und aus dem Boden isoliert und besonders morphologisch eingehend studiert. Dabei trat eine ganz beachtliche Vielfalt von Typen zu Tage, die sich sowohl durch Kulturmerkmale als auch sporologisch voneinander unterscheiden. Einen Überblick über einige der bisher beobachteten Sporentypen innerhalb der Sektion *Elegans* geben die Abbildungen 1 bis 5. Neben den am häufigsten gefundenen Stämmen vom Typ des *F. oxysporum* Schl. (Abb. 1) wurden auffallend kleinsporige (Abb. 2), sehr lange, hochseptierte und ziemlich gerade (Abb. 3) sowie solche vom Typ des *F. redolens* Wr. (Abb. 4 und 6) und davon wieder einige besonders kräftige und stärker gekrümmte (Abb. 5) angetroffen. Diese Unterschiede sind nicht auf Umwelteinflüsse zurückzuführen, sondern sind charakteristische Eigenarten der jeweiligen Stämme. Sie zeigten sich in frisch isolierten Kulturen, auf den verschiedensten Substraten und unter Bedingungen, wie sie *Elegans*-Fusarien zusagen (vgl. Gerlach 3, Gerlach, Sauthoff und Pag 4). Sie traten, soweit Infektionen mit diesen Stämmen gelangen, auch bei Reisolierungen wieder auf. Alle diese Typen würden nach Snyder und Hansen zu einer einzigen Art gehören. Obwohl es zwischen den abgebildeten, für einen bestimmten Typ besonders charakteristischen Vertretern manche Übergänge gibt und bei den einzelnen Stämmen je nach den Umweltbedingungen eine gewisse Variationsbreite vorhanden ist, sind die Unterschiede zwischen den z. B. mit den Abbildungen 2, 3 und 5 wiedergegebenen Sporen so auffallend, daß es kaum gerechtfertigt sein dürfte, sie alle als ein und dasselbe *Fusarium* zu bezeichnen, wenn man nicht das Bestreben, ein isoliertes *Elegans-Fusarium* möglichst klar zu kennzeichnen und zu benennen, überhaupt aufgeben will. Die Tatsache, daß viele Autoren, die dem Vorschlag von Snyder und Hansen folgen, bei der Untersuchungen über *Fusarium*-Tracheomykosen die Morphologie der betreffenden *Elegans*-Fusarien oft weitgehend vernachlässigt und sich mit Hinweisen begnügt haben wie „gehört zu *F. oxysporum* Schl. em. Snyd. et Hans.", gibt zu denken und ist zu bedauern. In den hiesigen Untersuchungen, die sich u. a. bisher auf Vertreter von 14 verschiedenen spezialisierten Formen erstreckten, hat sich nämlich gezeigt, daß Stämme mit gleichen pathogenen Fähigkeiten in der Regel auch gleiche morphologische Eigenarten besitzen. Der Nachweis, daß Isolierungen ein und derselben „forma specialis" bzw. „Rasse" (einige früher als Varietäten oder Formen bezeichnete *Elegans*-Fusarien werden neuerdings auch als „Rassen" einer bestimmten „forma specialis" aufgefaßt) morphologisch bis in alle Einzelheiten übereinstimmen können, ermöglicht es in solchen Fällen, schon aus der Morphologie von Isolaten aus kranken Pflanzen gewisse Rückschlüsse auf die Pathogenität der isolierten Stämme zu ziehen, wenn für die als Krankheitserreger in Frage kommenden Fusarien der *Elegans*-Gruppe genaue Beschreibungen vorliegen. Diese Tatsache dürfte durchaus auch von praktischer Bedeutung sein, zumal an einigen Pflanzenarten, wie z. B. Erbse, Batate, Banane, Baumwolle, Narzisse, verschiedenen Kruziferen, Lilien-Arten und Nelke, zwei oder noch mehr *Elegans*-Fusarien als Erreger nachgewiesen worden sind, die sich oft nicht nur in bestimmten morphologischen Merkmalen, sondern auch in den von ihnen verursachten Krankheits-

Abb. 1. *Fusarium oxysporum* Schl., Stamm 8730 von *Asparagus officinalis*. Typische Konidienprobe aus einem Sporodochium einer 9 Wochen alten Erstkultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

Abb. 2. *Elegans - Fusarium*, Stamm 8777 von *Echinocactus* sp. Typische Konidienprobe aus einem Sporodochium einer 6 Wochen alten Erstkultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

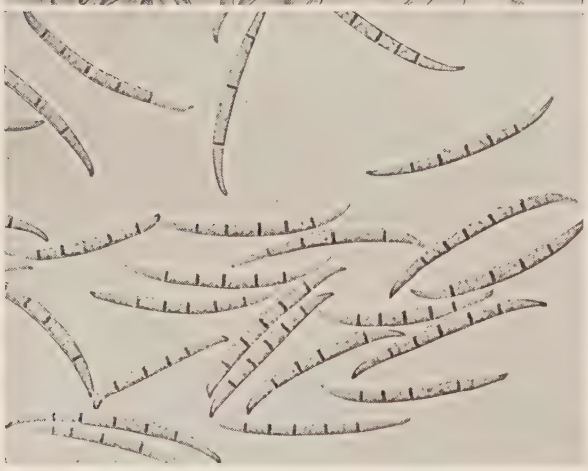


Abb. 3. *Elegans - Fusarium*, Stamm 8819 von *Zygocactus (Epiphyllum) truncatus*. Typische Konidienprobe aus einem Sporodochium einer 7 Wochen alten Erstkultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

bildern, in ihren Wirtsspektren usw. voneinander unterscheiden. Ein besonders sorgfältiges Studium der einzelnen Isolierungen und ein gewisses Maß an Erfahrungen mit Vertretern dieser Gruppe sind jedoch unbedingte Voraussetzungen dafür, daß Unterschiede oder Übereinstimmung in feinen Kultur- und Sporenmerkmalen festgestellt werden können.

Abb. 4. *Fusarium redolens* Wr., Stamm 8717 von *Asparagus officinalis*. Typische Konidienprobe aus einem Sporodochium einer 10 Wochen alten Erstkultur auf Luzernestengel (500 : 1)

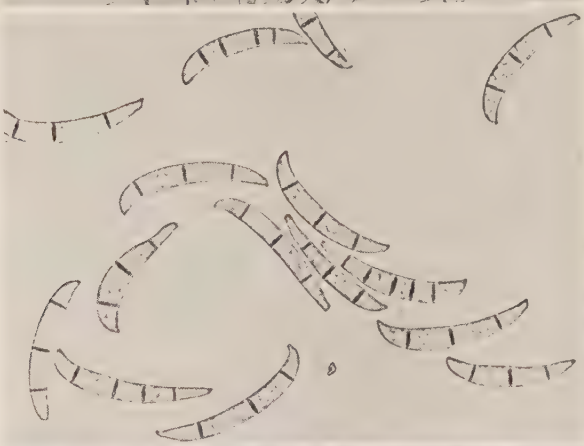


Abb. 5. *Fusarium redolens* Wr., Stamm 8013 von *Dianthus caryophyllus*. Typische Konidienprobe aus einem Sporodochium einer 10 Wochen alten Erstkultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

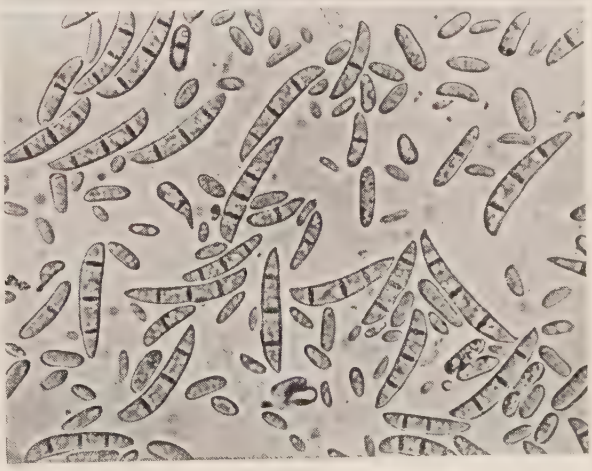


Abb. 6. *Fusarium redolens* Wr., Stamm 7536 von *Iris germanica*. Typische Konidienprobe aus einem pionnotalen Sporenlager einer 17 Wochen alten Folgekultur auf Hafermehlagar (500 : 1)

Das *Elegans*-Fusarium, das sich wohl am deutlichsten von dem Typ des *F. oxysporum* Schl. unterscheidet, ist *F. redolens* Wr. Diese Art ist 1913 von WOLLENWEBER (11) aufgestellt und von ihm 1931 (12) ausführlich beschrieben worden. Entgegen der Auffassung von SNYDER und HANSEN (10) hat RAILLO (8) 1950 *F. redolens* als selbständige Art im Sinne von WOLLENWEBER beibehalten und dafür sogar eine besondere Untersektion — *Pseudomartiella* — geschaffen. Von GORDON (5) ist dieses *Fusarium* 1952 als Varietät wieder von *F. oxysporum* Schl. em. Snyd. et Hans. abgetrennt und von BILAI (1) 1955 als *F. solani* (Mart.) App. et Wr. var. *redolens* (Wr.) Bilai in die Sektion *Martiella* gestellt worden.

Unter den im hiesigen Institut isolierten *Elegans*-Fusarien sind 38 Stämme vom Typ des *F. redolens*. Einen Überblick über die Herkunft gibt Tabelle 1.

Mit den bei uns üblichen und bewährten Verfahren (GERLACH 3, GERLACH, SAUTHOFF und PAG 4) wurden die Stämme isoliert, Einsporkulturen hergestellt, diese auf einer Serie von sechs verschiedenen Nährböden (Bierwürze-, Möhrendekokt-, Hafermehlagar, Gerstenähre, Luzernestengel und Reisbrei) durchkultiviert und bei Tageslicht und Zimmertemperatur gehalten, also unter Bedingungen, unter denen sich *Elegans*-Fusarien erfahrungsgemäß gut und typisch entwickeln. In der Regel konnten diese Isolierungen bereits während der Anzucht eindeutig als *F. redolens* erkannt werden (vgl. GORDON 5), und zwar an dem typischen Geruch, den sehr blassen Farbtönen und dem verhältnismäßig flachen, mehr oder weniger haarigen, strähnigen, durch eingelagerte Mikrokonidien pulvrig erscheinenden Luftmyzel. Makroskopisch stimmten alle Stämme völlig überein, in den Sporenwerten wichen jedoch zwei durch dickere Konidien von den anderen ab. Die folgenden, für alle Stämme zutreffenden Angaben beruhen auf Beobachtungen an frisch isolierten und frisch reisolierten Kulturen im Zustand der „Hochkultur".

Luftmyzel

entsteht auf allen Substraten einer Serie, verhältnismäßig üppig auf den Agar-Nährböden. Es wächst ziemlich flach, haarig, bärtig, strähnig, ist kurz bis mäßig hoch, bleibt häufig weiß oder bekommt einen grau-sandfarbenen bis blaß bernstein- oder fleischfarbigen Anflug. Kräftigere rosa oder rot- bis blauviolette Farbtöne fehlen. Durch eingelagerte Mikro- und Makrokonidien nimmt es mit zunehmendem Alter ein pulvriges, beim Eintrocknen fast krustiges Aussehen an. Schon an Hand dieser Merkmale läßt sich *F. redolens* recht gut von den meisten anderen *Elegans*-Fusarien unterscheiden.

Sporenlager

werden als flache schleimige, später krustige, pionnotale Lager oder als meist verhältnismäßig kleine, annähernd rundliche Sporodochien angelegt. Diese sind oft nur spärlich vorhanden, auf Hafermehlagar noch am häufigsten, bleiben in der Regel sahnefarbig bis blaß sandfarben oder werden beim Eintrocknen leicht bräunlich. Nur gelegentlich färben sich einzelne auf Hafer-

Tabelle 1 Herkunft der *Fusarium redolens*-Stämme

Stamm Nr.	Herkunft	Zeitpunkt der Isolierung	Pflanzenart	Pflanzenteil
7535	Berlin	Juni 1953	*Iris germanica*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7536	Berlin	Juli 1953	*Iris germanica*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7542	Braunschweig	Juni 1954	*Lupinus angustifolius*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7543	Braunschweig	Juni 1954	*Lupinus angustifolius*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7544	Braunschweig	Juni 1954	*Lupinus angustifolius*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7551	Berlin	Juni 1953	*Iris germanica*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7552	Kiel-Kitzeberg	Juni 1953	*Pisum sativum*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7553	Aschaffenburg	Mai 1954	*Tulipa* sp.	faulende Zwiebel
7554	Berlin	Juni 1954	*Iris germanica*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7555	Berlin	Juni 1954	*Iris florentina*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7556	Berlin	Juni 1954	*Iris florentina*	verbräunte Wurzel welkender Pflanze
7557	Braunschweig	August 1954	*Lupinus angustifolius*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7736	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7737	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7738	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7739	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7740	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7741	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7742	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7743	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7744	Waiblingen (Württembg.)	November 1954	*Dianthus caryophyllus*	faulender Stengelgrund welkender Pflanze
7910	Berlin	August 1955	*Dianthus caryophyllus*	verbräunte Gefäße welkender Pflanze
8013	Berlin	Dezember 1955	*Dianthus caryophyllus*	verbräunte Gefäße abgestorbener Pflanze
8087	Berlin	April 1956	*Dianthus caryophyllus*	verbräunte Gefäße abgestorbener Pflanze
8183	Berlin	Juli 1956	*Iris germanica*	faulendes Rhizom absterbender Pflanze
8196	Berlin	Juli 1956	*Iris tectorum*	faulendes Rhizom absterbender Pflanze
8227	Berlin	August 1956	*Iris germanica*	faulendes Rhizom absterbender Pflanze
8386	Pinneberg (Holstein)	Dezember 1956	*Ligustrum vulgare*	verbräunte Wurzel kümmernder Pflanze
8434	Berlin	Juni 1957	*Cucumis sativus*	verbräunte Wurzel fußkranker Pflanze
8440	Karlsdorf bei Bruchsal	Juni 1957	*Asparagus officinalis*	verbräunte Wurzel kümmernder Pflanze
8442	Karlsdorf bei Bruchsal	Juni 1957	*Asparagus officinalis*	verbräunte Wurzel kümmernder Pflanze
8461	Lauvenburg bei Neuß	Juni 1957	*Asparagus officinalis*	faulendes Rhizom kümmernder Pflanze
8467	Braunschweig	Juli 1957	*Asparagus officinalis*	faulender Stengelgrund kümmernder Pflanze
8681	Göttingen	Juli 1958	*Pisum sativum*	faulender Stengelgrund fußkranker Pflanze
8717	Veltenhof (Oker)	September 1958	*Asparagus officinalis*	faulender Stengelgrund kümmernder Pflanze
8718	Lamme bei Braunschweig	September 1958	*Asparagus officinalis*	verbräunte Stelle am Stengelgrund
9386	Zeiskam (Pfalz)	Oktober 1960	*Daucus carota*	Faulstelle an Mohrrübe
9552	Lübeck	Januar 1961	*Helleborus niger*	Stengelgrund kümmernder Pflanze

mehlagar kräftiger lachs-orange. Auf Würze- und Möhrendekoktagar sowie auf Reisbrei fehlen typische Sporenlager meistens völlig.

Sporen

kommen als Mikro- und Makrokonidien vor. Sporenproben aus Sporodochien enthalten fast ausnahmslos Makrokonidien (Abb. 4 und 5), Proben aus dem Luftmyzel und aus pionnotalen Lagern dagegen überwiegend oder zumindest einen hohen Anteil an Mikrokonidien (Abb. 6). Die Mikrokonidien entstehen in falschen Köpfchen und sind im Durchschnitt wesentlich größer — besonders dicker — als bei allen anderen *Elegans*-Fusarien (Abb. 6).

Tabelle 2
Durchschnittswerte der Sporen aller Stämme
(in Mikron)

Septenzahl	Gemessene Sporen	Durchschnitt		Absolute Schwankung		Anteil in Prozent
		Länge	Dicke	Länge	Dicke	
0	2600	9,3 × 3,1		4–21 × 1,9–5,7		0 – 100
1	2000	17,9 × 3,9		9–36 × 2,3–6,0		0 – 51
2	200	24,6 × 4,7		16–37 × 3,4–6,6		0 – 18
3	9000	34,3 × 4,8		17–58 × 2,9–7,0		0 – 100
4	2300	40,1 × 5,0		26–58 × 3,7–6,9		0 – 29
5	400	44,0 × 5,2		32–59 × 4,0–6,8		0 – 5
6	11	47,3 × 5,0		39–59 × 4,1–6,2		sehr selten
9	1	44,0 × 5,0				
Chlamydosporen						
0	200	8,8 × 7,9		6–14 × 6–13		
1	100	14,8 × 8,7		11–21 × 6–14		

Die Makrokonidien werden endständig an verzweigten Trägern gebildet. Sie sind meist 3-, seltener 4-, gelegentlich auch 5- und nur ganz vereinzelt 6- bis 9-septiert. In besonders hoch entwickelten Proben kann der Anteil an 4- und 5-septierten Sporen ausnahmsweise etwa 30 % betragen (vgl. JAMALAINEN 7). Die spindelig-sichelförmigen, fußzelligen Konidien sind in der Regel nur schwach (Abb. 4), bei einigen Stämmen auch stärker gekrümmt (Abb. 5), im oberen Drittel am dicksten und meist mit einer verhältnismäßig kurzen, manchmal fast hakig gebogenen Scheitelzelle versehen. Die Außenwände und die Septen sind kräftiger als bei anderen Vertretern der *Elegans*-Gruppe. Der besondere und von dem des *F. oxysporum* eindeutig verschiedene Sporentyp ist in allen Proben aus Reinkulturen zu erkennen. Er ist bei kurzen und gedrungenen Sporen, wie sie in Proben aus pionnotalen Lagern besonders ausgeprägt und häufig vorkommen, am auffälligsten (Abb. 6).

Zuverlässige Durchschnittswerte für die Größe der Mikro- und Makrokonidien wurden durch Messungen an über 16 500 Sporen ermittelt. Da gute

und typische Sporenproben besonders von Hafermehlagar, aber oft auch von Gerstenähre und Luzernestengel zu erhalten waren, liegen den in Tabelle 2 wiedergegebenen Werten Proben von diesen drei Substraten zugrunde. Die Durchschnittswerte von Proben zu je 100 Makrokonidien können beträchtlich voneinander abweichen (Tab. 3). Das ist sowohl auf

Tabelle 3
Schwankung der Durchschnittswerte von Proben zu je 100 Konidien

Septenzahl	Gemessene Sporenproben	Schwankung der Durchschnittswerte	
		Länge	Dicke
3	90	26,0–45,3 × 4,4–5,7	
4	23	33,2–48,7 × 4,7–5,7	

Tabelle 4
Durchschnittswerte der Sporen von verschiedenen Substraten

Substrat	3-sept.	4-sept.
Hafermehlagar	37,2 × 4,8	42,4 × 5,0
Gerstenähre	32,8 × 4,8	38,3 × 5,0
Luzernestengel	32,9 × 4,8	39,4 × 5,1

Einflüsse des Substrates als auch auf Unterschiede zwischen den Stämmen zurückzuführen. Die Länge der Makrokonidien war bei allen Stämmen etwa gleich, dagegen deutlich größer bei Proben von Hafermehlagar als bei solchen von Gerstenähre und Luzernestengel (Tab. 4). In der Dicke waren keine Unterschiede zwischen Proben von den verschiedenen Substraten festzustellen. Unter den Stämmen wichen aber die beiden von Edelnelke isolierten 8013 und 8087 mit Durchschnittswerten von 5,2 bis 5,7 μ deutlich von allen anderen ab (vgl. Abb. 5 mit Abb. 4), besonders von einigen, deren Makrokonidien in der Regel nur durchschnittlich 4,4 bis 4,6 μ dick waren (vgl. JAMALAINEN 7). Außerdem zeigten die beiden Stämme eine Neigung zu auffallend dicken, hakig gebogenen Scheitelzellen (Abb. 5), die häufig nach vorn umknicken und abbrechen. Diese Tendenz war auf allen drei genannten Nährböden zu beobachten — auch in Reisolierungen aus Nelken (8013 und 8087 sind an *Dianthus* spp. pathogen) —; sie ist daher durchaus als typisch für diese Stämme anzusehen. Trotzdem sollen die beiden Isolierungen nicht von *F. redolens* abgetrennt, sondern in die Variationsbreite dieser Art mit einbezogen werden, zumal *F. spinaciae* Sherbakoff ap. Hungerford (6), das — nach der Abbildung und den in der Diagnose angegebenen Dickenwerten zu urteilen — den Stämmen 8013 und 8087 sehr ähnlich sein dürfte, von WOLLENWEBER (12) sowie von WOLLENWEBER und REINKING (13) auch zu *F. redolens* (forma 1) gestellt worden ist.

Chlamydosporen

kommen im Myzel und in Konidien vor, können terminal oder interkalar entstehen und sind rundlich bis oval, ein- oder mehrzellig, meist glatt, nur ausnahmsweise rauh. Sie sind kaum größer als die anderer *Elegans*-Fusarien (vgl. Tab. 2).

Sklerotien

werden nur spärlich gebildet und sind dann zumeist rundlich oder flacher, sahne- oder sandfarbig bis blaß bräunlich und haben nur selten einen leichten spangrünen Anflug. Kräftig blaugrün, rötlich oder blauviolett gefärbte sklerotiale Plektenchyme, wie sie bei vielen Vertretern der *Elegans*-Gruppe vorkommen, fehlen bei *F. redolens* völlig.

Färbungen

des Substrates sind wenig auffällig. Hafer-, Möhrendekokt- und Bierwürzeagar zeigen in der Regel sahne-, sand-, leder-, bernstein- oder blasse fleisch- bis rosafarbige Töne. Ältere Kulturen werden bräunlich. Auf Möhrendekoktagar können an der Glaswand des Reagenzröhrchens entlang der Schrägfläche des Nährbodens gelegentlich schwache schmutzig grau-grünliche Färbungen, auf Reisbrei im Substrat manchmal rötlich-violette auftreten.

Geruch

wurde im Verlauf der Untersuchungen bei allen Stämmen beobachtet. Meistens war der an den Duft von Flieder oder an gewisse Fruchtester erinnernde, manchmal schon aufdringliche Geruch bei frischen Isolierungen am stärksten, und zwar auf Reisbrei, Bierwürze- und Hafermehlagar. Bei einigen Stämmen war er anfangs kaum wahrnehmbar, nahm aber später, manchmal erst in Folgekulturen, an Intensität zu. Der Geruch dürfte stark von Umweltbedingungen abhängen. Es erscheint fraglich, ob es überhaupt völlig geruchlose Stämme von *F. redolens* gibt. Die von WOLLENWEBER (12) auf dem Merkmal des fehlenden Geruches aufgestellte und z. B. von WOLLENWEBER und REINKING (13), DOIDGE (2), JAMALAINEN (7) und RAILLO (8) beibehaltene „forma 1" dürfte daher wohl kaum berechtigt und auch nicht erforderlich sein.

Die dargelegten Ergebnisse von morphologischen Untersuchungen an 38 Stämmen bestätigen, daß *F. redolens* Wr. ein durch bestimmte Sporen- und Kulturmerkmale gut zu charakterisierender und von dem Formenkreis des *F. oxysporum* Schl. und anderen *Elegans*-Fusarien klar zu unterscheidender *Fusarium*-Typ ist, der in mancher Hinsicht einen Übergangstyp zur Sektion *Martiella* darstellt. Auf diese Zwischenstellung haben u. a. schon SHERBAKOFF (bei HUNGERFORD 6), WOLLENWEBER und REINKING (13), RAILLO (8) und GORDON (5) hingewiesen, dieses *Fusarium* aber doch in der Sektion *Elegans* belassen. Dort ist *F. redolens* zweifellos besser untergebracht als bei *F. solani* (Sektion *Martiella*), zu dem es von BILAI (1) als Varietät gestellt worden ist. Ob man *F. redolens* als selbständige Art oder als Varietät von *F. oxysporum*

(Gordon 5) beibehält, ist eine reine Ermessensfrage. Da jedoch die Unterschiede gegenüber *F. oxysporum* klar und verhältnismäßig groß sind, *F. redolens* fast 30 Jahre lang als Art bestanden und sich dieser Name weitgehend durchgesetzt hatte, erscheint es angebracht, *F. redolens* als gute Art im Sinne von Wollenweber (11, 12) wieder anzuerkennen:

Fusarium redolens Wr.
(Wollenweber 1913, Wollenweber 1931, Wollenweber und Reinking 1935, Raillo 1950).
syn.: *F. redolens* Wr. f. 1 Wr.
(Wollenweber 1931, Wollenweber und Reinking 1935, Doidge 1938, Jamalainen 1944, Raillo 1950).
F. redolens Wr. var. *solani* Sherb.
(Sherbakoff 1915).
F. spinaciae Sherb. ap. Hungerford
(Hungerford 1923).
F. oxysporum Schl. em. Snyd. et Hans. pr. p.
(Snyder und Hansen 1940).
F. oxysporum Schl. em. Snyd. et Hans. f. *spinaciae* (Sherb.) Snyd. et Hans.
(Snyder und Hansen 1940).
Sectio *Elegans*, Subsectio *Pseudomartiella* Raillo
(Raillo 1950).
F. oxysporum Schl. em. Snyd. et Hans. var. *redolens* (Wr.) Gordon
(Gordon 1952).
F. solani (Mart.) App. et Wr. var. *redolens* (Wr.) Bilai
(Bilai 1955).

Ein solcher Schritt hätte außerdem den praktischen Vorteil, daß man auf bestimmte Wirtspflanzen-Arten spezialisierte Vertreter aus dem Formenkreis des *F. redolens*, analog zu dem Verfahren bei *F. oxysporum*, klar als „*F. redolens* Wr. f. . . . .“ benennen könnte. Solche Formen könnten z. B. mit dem als *F. spinaciae* Sherb. (= *F. oxysporum* Schl. em. Snyd. et Hans. f. *spinaciae* [Sherb.] Snyd. et Hans.) bekannten Spinatwelke-Erreger und den an Erbse als pathogen nachgewiesenen *Redolens*-Stämmen bereits vorliegen. Über einen weiteren solchen Fall, nämlich ein an Nelken-Arten pathogenes *F. redolens* wird demnächst berichtet werden.

Zusammenfassung

Es werden die morphologischen Verhältnisse in der *Fusarium*-Sektion *Elegans* kurz diskutiert und einige im Sporentyp eindeutig verschiedene Vertreter dieser Gruppe durch Abbildungen belegt. Die Ergebnisse von Untersuchungen an 38 Stämmen von *F. redolens* Wr. werden dargestellt und als Beweismaterial dafür angesehen, daß *F. redolens* ein von dem Formenkreis

des *F. oxysporum* Schl. einwandfrei verschiedener *Fusarium*-Typ ist und deshalb als selbständige Art in der Sektion *Elegans* im Sinne von WOLLENWEBER wieder anerkannt werden sollte.

Für die Anfertigung der Abbildungen bin ich Herrn E. SCHÄLOW, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem, zu Dank verpflichtet.

Summary

Fusarium redolens Wr., its morphology and systematic position. A contribution towards knowledge of the Fusaria of the _Elegans_ group

The morphological relationships in the *Elegans* section of *Fusarium* are discussed briefly and some representatives of this group that are clearly different in spore type are illustrated. The results of investigations on 38 strains of *F. redolens* Wr. are presented and regarded as evidence that *F. redolens* is undoubtedly a different Fusarium type from the Formenkreis of *F. oxysporum* Schl. and should therefore be recognized once more as an independent species in section *Elegans* as understood by WOLLENWEBER.

Literaturverzeichnis

1. BILAI, V. I., 1955: Fusarien. Akad. Ukrain. SSR, Kiew, 288 (russ.).
2. DOIDGE, E. M., 1938: Some South African Fusaria. Bothalia **3**, 440—442.
3. GERLACH, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—176.
4. — —, W. SAUTHOFF und H. PAG, 1958: Untersuchungen über die *Fusarium*-Welke an *Aechmea fasciata* (Lindl.) Bak. Phytopath. Z. **32**, 416—432.
5. GORDON, W. L., 1952: The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. Canad. J. Bot. **30**, 236—238.
6. HUNGERFORD, C. W., 1923: A *Fusarium* wilt of spinach. Phytopathology **13**, 205—209.
7. JAMALAINEN, E. A., 1944: Über die Fusarien Finnlands. III. Valt. Maatalousk. Julk. **124**, 16—18.
8. RAILLO, A. I., 1950: Pilze der Gattung *Fusarium*. Staatsverlag Moskau, 257 (russ.).
9. SHERBAKOFF, C. D., 1915: Fusaria of potatoes. N. Y. Cornell agric. Exp. Stat. Memoir **6**, 205—209.
10. SNYDER, W. C., and H. N. HANSEN, 1940: The species concept in *Fusarium*. Amer. J. Bot. **27**, 64—67.
11. WOLLENWEBER, H. W., 1913: Studies on the *Fusarium* problem. Phytopathology **3**, 29—30.
12. — —, 1931: *Fusarium*-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenkde. **3**, 269—516.
13. — —, und O. A. REINKING, 1935: Die Fusarien. Paul Parey, Berlin.

Aus dem Phytopathologischen Laboratorium „Willie Commelin Scholten", Baarn, Holland

Über *Cylindrosporium padi*

Von

J. A. von Arx

Über den Namen und die Umgrenzung von „*Cylindrosporium padi*" (Lib.) Karst. besteht in der phytopathologischen und mykologischen Literatur eine große Unsicherheit (Blumer 1958). An Hand eines Vergleiches mit ähnlichen Formen soll der Pilz hier hinsichtlich seiner systematischen Stellung und Verwandtschaft besprochen werden.

Als Typusart der vorerst zu besprechenden Gattung *Cylindrosporium* Greville (1823) hat *Cylindrosporium concentricum* Grev. zu gelten. Bei ihr handelt es sich um einen charakteristisch gebauten, auf *Brassica*-Arten wachsenden Blattparasiten. Das zarte Myzel breitet sich in den lebenden Blättern nur subkutikulär aus, verdichtet sich stellenweise und bildet in konzentrischen Ringen angeordnete, milchweiße, im Umriß rundliche oder unregelmäßige Acervuli. Über diesen reißt die Kutikula rissig lappig auf. Der kleinzelligen Basalschicht entspringen zahlreiche aufrecht stehende Trägerhyphen. An diesen entstehen nacheinander akrogen zylindrische oder längliche, oft zu kurzen Ketten vereinigte, einzellige, hyaline Konidien. Die befallenen Blattpartien sterben nicht ab; die Acervuli entwickeln sich also subkutikulär auf den noch lebenden Epidermiszellen. Die Entwicklung des Pilzes wurde von Thomson (1936) ausführlich beschrieben und abgebildet.

Dieser ebenfalls selbst untersuchte Pilz ist die einzige sichere Art der Gattung *Cylindrosporium*. Sie steht nach von Arx (1957) *Discogloeum veronicae* (Lib.) Petr., der Typusart der Gattung *Discogloeum* Petr. sehr nahe. Der einzige generische Unterschied liegt in den sich hier intraepidermal und nicht subkutikulär entwickelnden Acervuli. Die Gattung *Cylindrosporium* ist demnach monotypisch und gehört zu den amerosporen Melanconiales.

Fälschlicherweise wurde *Cylindrosporium concentricum* von Berkeley und Broome (1850) in die jüngere Gattung *Gloeosporium* Desm. et Mont. (1849) gestellt und diesem Vorgehen schlossen sich spätere Autoren, zum Beispiel Saccardo (1884) in der Sylloge Fungorum an. *Gloeosporium castagnei* Desm. et Mont. als Typusart der Gattung hat jedoch zweizellige Konidien und ist heute allgemein unter dem Namen *Marssonina castagnei* (Desm.

et Mont.) Magn. bekannt. Die Gattung *Marssonina* Magn. (1906) ist mit *Gloeosporium* Desm. et Mont. obligat synonym. VON ARX (1957) schlug jedoch vor, den Namen *Marssonina* im bisherigen Sinne beizubehalten und in die Liste der „Nomina conservanda" aufzunehmen. Damit entfällt der Name *Gloeosporium,* und die meisten zu dieser Gattung gestellten Art wurden neu eingeordnet.

Die Gattung *Cylindrosporium* wurde von späteren Autoren, zum Beispiel von SACCARDO (1880) nicht mehr im Sinne ihrer Typusart aufgefaßt. Vielmehr wurde sie allgemein für scolecospore Melanconiales, also für Formen mit faden- oder wurmförmigen, ein- oder mehrzelligen, hyalinen Konidien gebraucht. In diesem Sinne war die Gattung jedoch von Anfang an systematisch sehr heterogen, was vor allem von VON HÖHNEL (1924) erkannt wurde. Dieser Autor prüfte zahlreiche fälschlicherweise zu *Cylindrosporium* gestellte Arten größtenteils an Hand der Originalkollektionen nach und ordnete sie neu ein. Für einige Arten begründete er neue Gattungen. So reihte er die von SACCARDO (1880, 1884) ebenfalls zu *Cylindrosporium* gestellten Sporidien-Formen von *Entyloma*-Arten als *Entylomella* ein. In anderen zu *Cylindrosporium* gestellten Arten erkannte er *Septoria*-artige Formen mit sich im Blattgewebe intraepidermal oder tiefer entwickelnden, oben mehr oder weniger in ihrer ganzen Breite offenen Fruchtkörpern. Wenn man derartige Pilze nicht einfach als *Septoria* einreihen will, müssen sie zu *Phloeospora* (*Phleospora*) Wallr. gestellt werden. Bei ihnen handelt es sich um in den Entwicklungskreis von *Mycosphaerella*-Arten gehörende Konidienformen. Ohne sie zu untersuchen, reihte VON HÖHNEL (1924) die hier zu besprechende *Cylindrosporium padi* (Lib.) Karst. als *Septoria padi* (Lib.) Thüm. ein.

In Wirklichkeit ist *Cylindrosporium padi* mit *Septoria-Phleospora* überhaupt nicht verwandt. Dieser Pilz ist vielmehr die Konidienform eines Discomyceten und zeichnet sich durch flache, sich streng subepidermal entwickelnde Acervuli und durch kurze, stumpfe, einer oft stromatischen Basalschicht aufsitzende Träger aus. Der Pilz steht den Gattungen *Gloeosporidiella* Petr. und *Marssonina* Magn. sehr nahe, unterscheidet sich jedoch durch die faden- oder wurmförmigen Konidien.

Wie die Untersuchung der betreffenden Kollektionen zeigte, ist *Cylindrosporium ceanothi* Ellis et Ev. ein sehr ähnlich gebauter und ohne Zweifel gattungsgleicher Pilz. Auf ihm begründete VON HÖHNEL (1924) die Gattung *Phloeosporella.* Die Art zeichnet sich durch folgende Merkmale aus:

Phloeosporella ceanothi (Ellis et Ev.) v. Höhn. — Ann. mycol. **22:** 201 (1924).
Synonym:
Cylindrosporium ceanothi Ellis et Ev. — Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. 1891: 84 (1892).
Matrix: lebende Blätter von *Ceanothus thyrsiflorus* Esch., *Ceanothus americanus* L., *Ceanothus ovatus* Desf. und andere *Ceanothus*-Arten in Nordamerika.

Die Acervuli entwickeln sich einzeln oder zu wenigen auf beiden Blattseiten in kleinen, gelblichen, etwas nekrotischen Verfärbungen. Sie werden subepidermal angelegt, sind im Umrisse rundlich oder etwas unregelmäßig, flach und erreichen einen Durchmesser von 220 bis 500 μ. Die deckenden

Schichten des Substrates werden aufgesprengt, abgeworfen oder seitlich zurückgeschlagen. Die Basalschicht der Acervuli ist flach, 7 bis 12 μ dick und besteht aus rundlich eckigen, zartwandigen, meist hyalinen, 3 bis 4,5 μ großen Zellen. Die dicht stehenden Träger sind länglich, oben stumpf, 4 bis 10 μ lang und 2,5 bis 4 μ breit. Die zahlreichen Konidien sind lang zylindrisch, meist etwas gebogen, seltener fast gerade, unten gestutzt, nach oben etwas verjüngt und abgerundet, einzellig oder mit ein bis zwei undeutlichen Querwänden versehen, hyalin und messen 38 bis 64 × 3 bis 4 μ. Über den Acervuli sammeln sie sich in einer schleimigen, milchigen Masse.

Wie aus folgender Beschreibung hervorgeht, muß nach *Cylindrosporium padi* in die Gattung *Phloeosporella* gestellt werden:

Phloeosporella padi (Lib.) v. Arx comb. nov.

Synonyme:

Ascochyta padi Lib. — Crypt. Ard. no. 153 (1832).
Cylindrosporium padi (Lib.) Karst. — Symb. Mycol. Fenn. **15**: 159 (1885).
Septoria padi (Lib.) Thüm. — Fungi austriaci no. 1186 (1873).
Septoria padi Lasch in Klotzsch — Herb. Mycol. 1, no. 457 (1842).
Cylindrosporium hiemalis Higgins — Amer. J. Bot. **1**: 165 (1914).
Cylindrosporium lutescens Higgins — l. c.
Cylindrosporium prunophorae Higgins — l. c.
Cylindrosporium tubeufianum All. — Hedwigia **34**: 278 (1895).

Matrix: lebende und absterbende Blätter von *Prunus padus* L., *Prunus avium* L., *Prunus cerasus* L., *Prunus mahaleb* L., *Prunus domestica* L,. *Prunus serrullata* Lindl. und zahlreichen anderen *Prunus*-Arten in Nordamerika und Europa.

Die Acervuli wachsen auf beiden Blattseiten in kleinen, nekrotischen Verfärbungen. Sie entwickeln sich subepidermal, sind im Umrisse rundlich oder etwas eckig, flach, anfangs geschlossen, nach dem Aufsprengen, Abwerfen und lappigen Zurückschlagen der deckenden Schichten weit offen, hell und haben einen Durchmesser von 172 bis 320 μ. Die Basalschicht ist flach, hell, 8 bis 17 μ dick und besteht aus rundlich eckigen, zartwandigen, hyalinen, 2 bis 3 μ großen Zellen. Nach unten dringen zarte Hyphen zwischen den braun verfärbten Wirtszellen tiefer in das Substrat ein. Die der Basalschicht dicht stehend aufsitzenden Trägerzellen sind stumpf kegelig oder konisch, 5 bis 12 μ lang und 2 bis 3,5 μ breit. Die zahlreich entstehenden Konidien sind lang zylindrisch oder wurmförmig, mehr oder weniger stark gebogen, ungefähr in der Mitte undeutlich septiert, oft auch bleibend einzellig oder mit zwei bis drei Septen versehen, an der 1,4 bis 2 μ breiten Ansatzstelle stumpf, oben etwas verjüngt und abgerundet, hyalin und 40 bis 68 × 2,5 bis 3,5 μ groß. Über den Fruchtlagern sammeln sie sich in schleimigen, weißen, rötlichen oder gelblichen Massen.

Diese Beschreibung wurde nach einer selbstgesammelten Kollektion entworfen. In dieser wächst der Pilz auf Blättern von *Prunus padus*. Ferner wurden zahlreiche andere Proben des Pilzes aus verschiedenen Herbarien nachgeprüft. Hierbei handelte es sich um befallene Blätter von verschiedenen *Prunus*-Arten.

Als Ursache einer Blattkrankheit (der Sprühflecken-Krankheit) der Kirschen ist dieser Pilz in der phytopathologischen Literatur sehr gut bekanntgeworden (DARPOUX 1945, HOCHAPFEL 1952, BLUMER 1958). Daß sich die drei von HIGGINS (1914) unterschiedenen Arten morphologisch und biologisch nicht unterscheiden lassen, bewiesen spätere Autoren durch den Vergleich zahlreicher Herkünfte und durch kreuzweise Infektionsversuche (KEITT 1918, MAGIE 1935). In Europa scheint der Pilz gewöhnlich in der Konidienform zu überwintern, Ascusfrüchte konnten, wenigstens bisher, nur gelegentlich beobachtet werden und auch bei eigenen Versuchen konnten auf überwinterten Blättern nur sterile Geflechte und Konidien gefunden werden. In den abgefallenen Blättern bildet der Pilz stromatische, plectenchymatische Hyphenkomplexe, die oft von einer dunklen Kruste umgeben sind. Auf diesen oder in mehr oder weniger typischen Acervuli werden bei warmer Witterung wiederum Konidien gebildet.

In Nordamerika überwintert der Pilz mit der im nächsten Frühling zur Reife gelangenden Ascusform. Die Apothecien werden im Herbst tief im Blattgewebe als plectenchymatische Hyphenknäuel angelegt. In den Acervuli werden an länglichen Trägern gleichzeitig einzellige, hyaline Spermatien (Mikrokonidien) gebildet. Nach BACKUS (1934) verschmelzen diese mit sich aus den Apothecienanlagen entwickelnden Trichogynen.

Die Ascusform von *Phloeosporella padi* wurde erstmalig von REHM (1907) als *Pseudopeziza jaapii* Rehm beschrieben. Die Zusammengehörigkeit der beiden Formen wurde von JAAP (1916) durch Infektionsversuche bewiesen. In Nordamerika beobachtete HIGGINS (1914) Ascusstadien auf verschiedenen *Prunus*-Arten und beschrieb diese als drei neue Arten der Gattung *Coccomyces*. Daß diese Ascusformen weder zu *Pseudopeziza* noch zu *Coccomyces* gehören können, erkannte NANNFELDT (1932) und begründete für sie die neue Gattung *Higginsia* Nannf. Dieser Name ist jedoch als jüngeres Homonym der Rubiaceen-Gattung *Higginsia* Pers. (1805) (= *Hoffmannia* Sw. 1788) nicht gültig.

In der phytopathologischen Literatur wird der Pilz auch heute noch fast allgemein als *Coccomyces* angeführt. Diese Eingliederung ist jedoch systematisch völlig verfehlt. Nach ihrer Typusart beurteilt gehört die Gattung *Coccomyces* zu den *Hypodermataceae* (Phacidiales). „*Higginsia*" im Sinne von NANNFELDT (1932) ist eine gute Gattung der Helotiales, muß aber einen anderen Namen erhalten. Als solcher sei hier zu Ehren des schweizerischen Phytopathologen und Mykologen Dr. S. BLUMER in Wädenswil *Blumeriella* nov. nom. vorgeschlagen.

Die Ascusform von *Phloeosporella padi* hat dann *Blumeriella jaapii* (Rehm) v. Arx comb. nov. (Basionym: *Pseudopeziza jaapii* Rehm — Ann. Mycol. 5: 465, 1907) zu heißen. Die von HIGGINS (1914) als *Coccomyces* beschriebenen und von NANNFELDT (1932) als *Higginsia* eingereihten Formen sind morphologisch von dieser Art nicht verschieden und müssen als Synonyme dazu gestellt werden.

Zusammenfassung

Wie ein Vergleich der betreffenden Pilze zeigte, ist „*Cylindrosporium*" *padi* (Lib.) Karst. mit *Phloeosporella ceanothi* (Ellis et Ev.) v. Höhn., der Typusart der Gattung *Phloeosporella*, sehr nahe verwandt und muß *Phloeosporella padi* (Lib.) v. Arx genannt werden. Die Ascusform *Coccomyces hiemalis* Higgins ist mit der einige Jahre früher beschriebenen *Pseudopeziza jaapii* Rehm identisch. Dieser Pilz kann wegen eines älteren Homonyms nicht als *Higginsia* Nannf. eingereiht werden, und daher wird als neuer Name *Blumeriella jaapii* (Rehm) v. Arx vorgeschlagen.

Summary

The genus name *Cylindrosporium* Grev. must be reserved for *Cylindrosporium concentricum* Grev., the type species of the genus. A comparison of a number of specimens showed that "*Cylindrosporium*" *padi* (Lib.) Karst. is closely related to *Phloeosporella ceanothi* (Ellis et Ev.) v. Höhn., the type species of the genus *Phloeosporella*, and is renamed *Phloeosporella padi* (Lib.) v. Arx. The genus *Phloeosporella* belongs to the scolecosporeous Melanconiales. The ascus state of *Phloeosporella padi*, known as *Coccomyces hiemalis* Higgins, is identical with the earlier described *Pseudopeziza jaapii* Rehm. This fungus is the type species of the genus *Higginsia* Nannf., but this latter name is not valid because it is a later homonym of *Higginsia* Pers. (Rubiaceae). *Blumeriella* is proposed as a new name and the fungus must be named *Blumeriella jaapii* (Rehm) v. Arx.

Literaturverzeichnis

Arx, J. A. von, 1957: Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze. Verh. Akad. Wetensch., Amsterdam, Afd. Natuurkde.

Backus, M. P., 1934: Initiation of the ascocarp and associated phenomena in *Coccomyces hiemalis*. Contrib. Boyce Thompson Inst. **6**, 339—379.

Berkeley, M. J., & C. E. Broome, 1850: Notices of British Fungi. Ann., Mag. nat. Hist., sér. 2, **5**, 455.

Blumer, S., 1958: Beiträge zur Kenntnis von „*Cylindrosporium padi*". Phytopath. Z. **33**, 263—290.

Darpoux, H., 1945: Etude sur l'anthracnose du cérisier. Ann. Epiphyt. n. s. **11**, 161—175.

Greville, R. K., 1823: *Cylindrosporium concentricum*. Scot. Crypt. Flora **1**, 27.

Higgins, B. B., 1914: Contribution to the life history and physiology of *Cylindrosporium* on stone fruits. Amer. J. Bot. **1**, 145—173.

Hochapfel, H., 1952: Die *Cylindrosporium*-Krankheit an Süß- und Sauerkirschen in Europa und Nordamerika. Phytopath. Z. **19**, 389—402.

Höhnel, F. von, 1924: Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Cylindrosporium*. Ann. mycol. **22**, 191—203.

Jaap, O., 1916: Verzeichnis der bei Triglitz in der Prignitz beobachteten Fungi imperfecti. Verh. bot. Ver. Prov. Brandenburg **58**, 6—54.

Keitt, G. W., 1918: Inoculation experiments with species of *Coccomyces* from stone fruits. J. agric. Res. **13**, 539—569.

Magie, R. O., 1935: Variability of monosporic cultures of *Coccomyces hiemalis*. Phytopathology **25**, 131—159.

Nannfeldt, J. A., 1932: Studien über die Morphologie und Systematik der nicht lichenisierten, inoperculaten Discomyceten. Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsaliensis, sér. 4 **8**, 173.

Rehm, H., 1907: Ascomycetes exs. Fasc. 40. Ann. mycol. **5**, 465—473.

Saccardo, P. A., 1880: Michelia **2**, 12.

— — 1884: Syll. Fung. **3**, 699—740.

Thompson, J. R., 1936: *Cylindrosporium concentricum* Grev. Trans. Brit. mycol. Soc. **20**, 123—132.

Department of Plant Pathology, Cornell University, Ithaca, N. Y.

A First Report of Powdery Mildew on Fennel in Italy

By

Carmine Noviello

With 2 Figures

The fennel [*Foeniculum vulgare* 'Azoricum' (Mill.) Thell.][1]) crop in Italy has been assuming an ever increasing importance especially for some southern regions. The production is nearly 1,500,000 metric quintals, with Sicily leading in production (465,000 q.), followed by Campania (207,050), Apulia (189,850), Lazio (152,050), and Marche (148,850) (Scaramuzzi 1956).

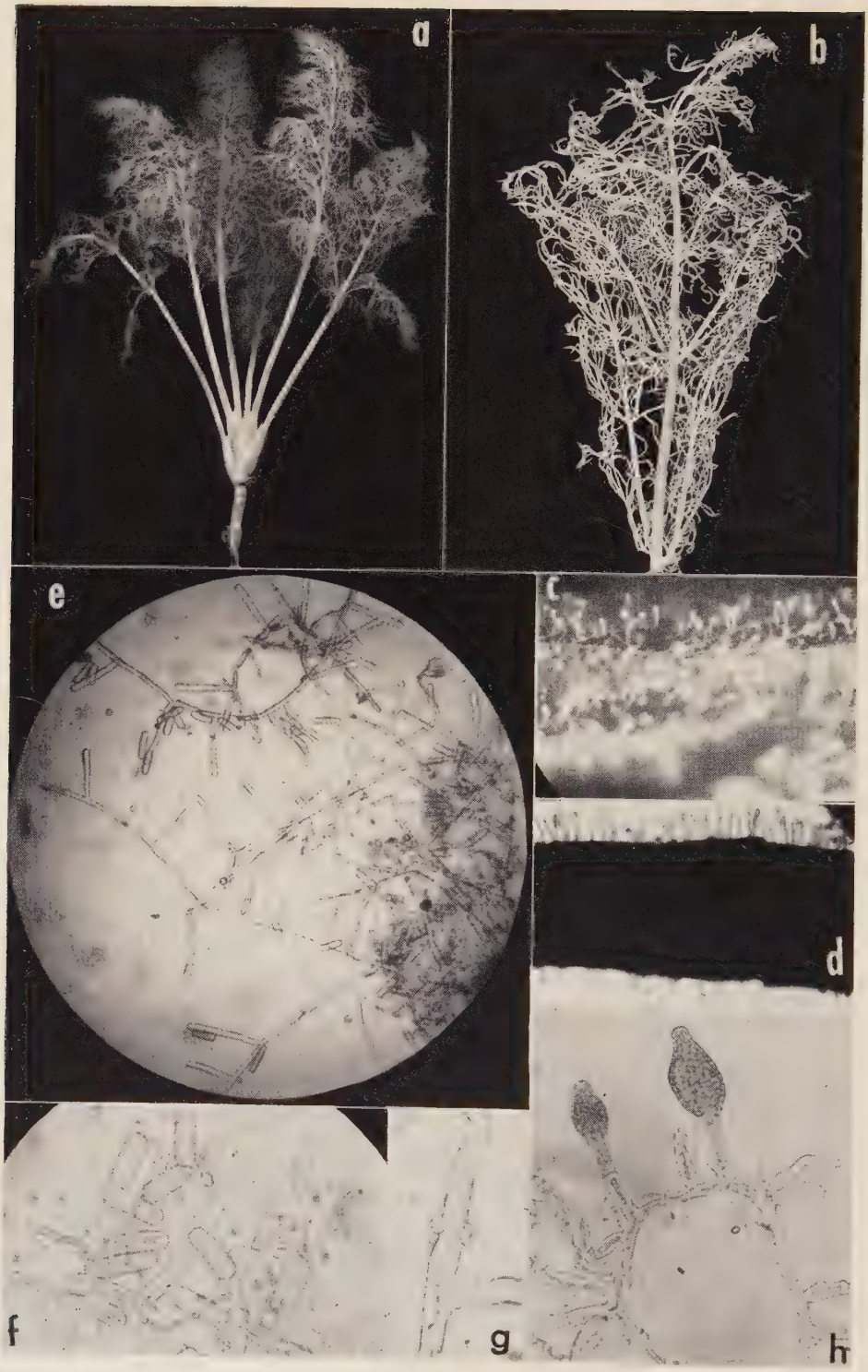
At the end of the summer of 1958, the writer observed that most of the underlying young fennel plants growing in an apricot orchard situated near Naples, at the foot of Mt. Vesuvius (Torre del Greco), had the leaves covered with a powdery mildew, which proved to be a species of the genus *Oidium* (the imperfect state of certain *Erysiphaceae*).

In the summer of 1959, the same disease was found in many other fennel fields and particularly in some seed-beds but always in the area near Mt. Vesuvius, whereas it was not found in the Sarno Valley which is the most important zone for fennel cultivation in Campania.

The writer has found no previous record, in Italy, of a species of *Oidium* on fennel. With respect to Europe, the only record is that of Komirna (1938) who reported *Erysiphe umbelliferarum* De Bary on fennel in the Kharkoff Botanical Garden in the Ukraine. Only recently, an unidentified species of the genus *Oidium* has been reported on fennel in India (Joshi 1958).

In 1959 the disease appeared in the open field about September 15th, whereas in seed-beds it was present at the beginning of August. The particular form of the fennel leaf makes the perception of the first symptoms of the

1) The correct cultivar name in accordance with the International Code of Nomenclature for Cultivated Plants (1958) for the fennel cultivated for its edible leaf bases is *Foeniculum vulgare* cv. 'Azoricum' based on *Foeniculum azoricum* Mill., while the correct cultivar name for the fennel grown for the essential oil in the seed is *Foeniculum vulgare* cv. 'Dulce' based on *Foeniculum dulce* Mill. not *Foeniculum dulce* (DC.) DC. The confusion that has developed from two different uses of *Foeniculum dulce* or *Foeniculum vulgare* var. *dulce* has been clarified by Thellung in Hegi, Ill. Flora Mitt.-Eur. **5** (2): 1287, 1926, and by Martinez Crovetto in Rev. Inst. Invest. Agric. (Argentina) **1** (1): 32—35, 1947.


a
b
e
c
d
f
g
h

disease somewhat difficult. These consist of very slight discoloration, followed by a very tenuous, whitish cobweb. However, in a few days, the affected leaves are easily identifiable, even at distance, since they no longer have a typical dark green color, but look as though they have been dusted with a powdery substance (Fig. 1 a, b). From nearby, a whitish cobweb, more or less powdery, is easily observed, which encircles the leaflet (Fig. 1 c, d) and forms more or less continuous patches on the enlarged base of the leaf.

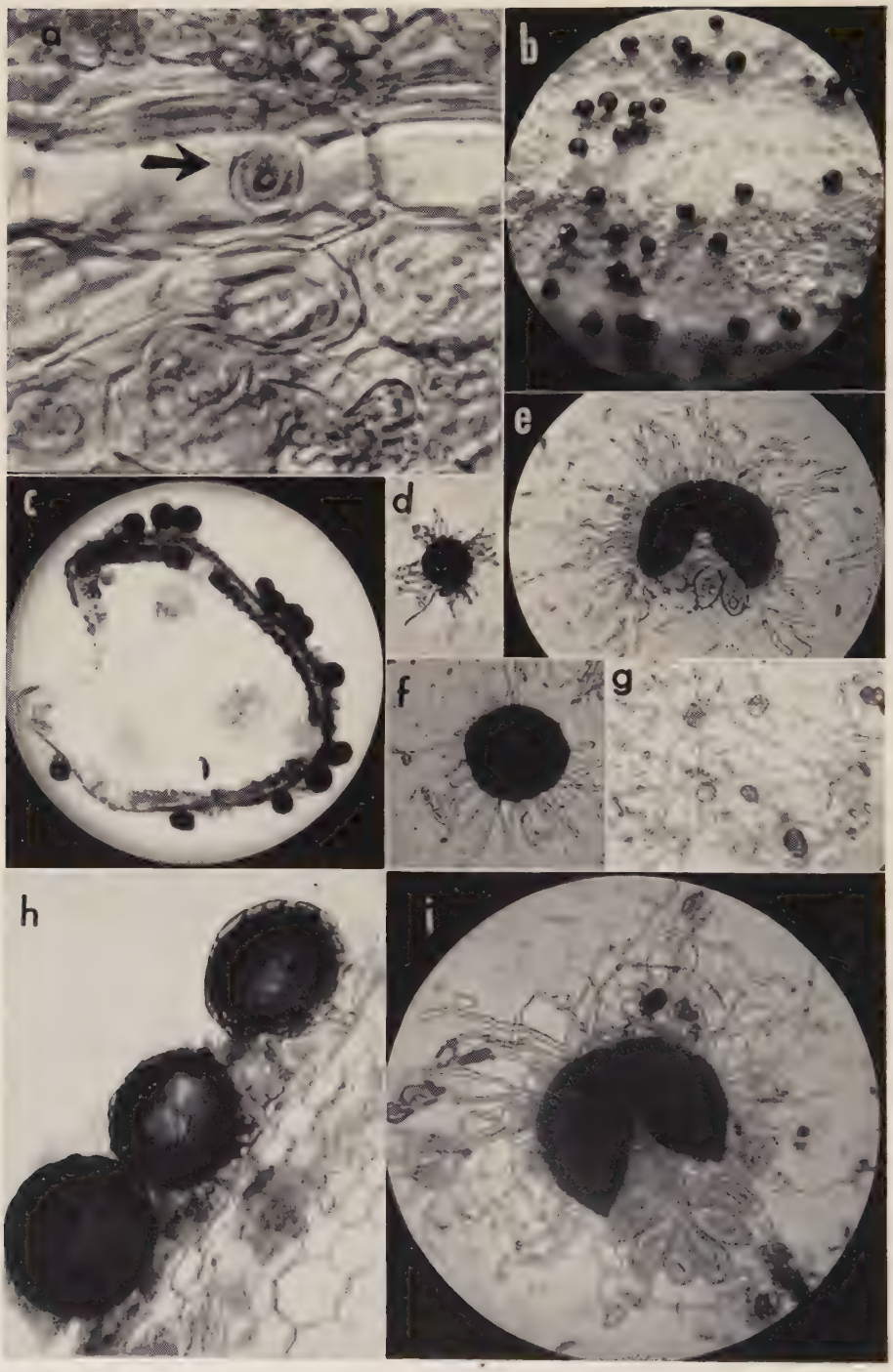
Generally the outer leaves are first attacked, which, almost always, turn yellow and may become flaccid. In the seed-bed the disease may be particularly severe. The diseased young plants, even if they do not die, nevertheless lose any commercial value inasmuch as they are very weak and therefore not in condition to overcome the normal transplanting crisis. In addition, the poor appearance of the diseased seedlings makes them unmarketable. In the open field the disease may be severe only in those years with a dry autumn. As a rule, it does not seem to be of great economic importance to the growers, because the diseased plants generally recover after the first rains, which coincide with a remarkable regression of the disease.

The whitish cobweb is formed by hyaline hyphae, of rather uniform diameter (6—8.5 μ), septate and with single cell length ranging between 55 and 85 μ. The mycelium produces lateral, lobed appressoria (the "haustoria lobulata" of De Bary 1870), measuring approximately $8 \times 4\ \mu$ (Fig. 1 g). The fungus sends into the epidermal cells vesicle-like haustoria (Fig. 2 a), which are found also in many other *Erysiphaceae* (Smith 1900). From the mycelium three-celled conidiophores originate bearing one, or seldom two, conidia (Fig. 1 d, e). The conidiophores, exactly corresponding to the second type of Foëx (1912), measure 5.5—8 × 85—145 μ. The conidia, almost perfectly cylindrical and with vacuolate cytoplasm, have a range of 29.4—54.6 × 9.37—21 μ; mode 37.1—38 × 12.1—13 μ; mean $39.75 \pm 0.52 \times 13.88 \pm 0.23\ \mu$. Conidia germinate from a "corner" by emission of a germ tube, which shortly thereafter gives rise to an appressorium (Fig. 1 f).

Besides the above described conidial state, the perfect state has also been observed. It is represented by blackish, almost spherical cleistothecia, generally slightly flattened and with numerous appendages, most of them situated in the basal region (Fig. 2 b, c, h). The cleistothecia are of the following size: range 96.6—168 × 79.8—147 μ; mode 117.1—118 and 125.1—126 × 104.1—105 and 117.1—118 μ; mean $121.7 \pm 2.0 \times 110.28 \pm 2.02\ \mu$. The appendages are almost always branched, even very irregularly (Fig. 2 d, e, f). The terminal portion of the appendages is very delicate, fragile, enmeshed with the mycelium and almost hyaline, whereas the basal half is brown colored. As a rule the appendages have a length equal to or slightly longer than (very seldom two or three times as long as) the diameter of the cleisto-

---

Fig. 1: a, young fennel plant with most of the leaves affected by powdery mildew; b, a close-up view of an affected leaf; c, surface of affected leaflet at higher magnification (× 33); d, leaflet showing amphigenous conidiophores (× 32); e, mycelium, conidiophores and conidia (× 81); f, germinated conidia (× 212); g, lobate appressoria (× 656); h, pycnidia of *Cicinnobolus cesati* on *Erysiphe umbelliferarum* conidiophores (× 232)


a
b
c
d
e
f
g
h
i

thecium (mean 115 μ; range 50.4 to 281.4 μ), but sometimes it is possible to observe rudimentary appendages, very dark colored. Since the appendages are very delicate and fragile, cleistothecia with few and very short appendages have sometimes been observed.

The cleistothecia are especially formed on those leaves or parts of leaves which begin to turn yellow. Moreover it has been observed that at the onset of rainy weather (usually the end of October to the beginning of November) the formation of cleistothecia increases whereas the conidial state remarkably decreases. At the end of October and even more in November, an increasing number of conidiophores and some cleistothecia were observed to be parasitized by *Cicinnobolus cesati* De Bary (Fig. 1 h).

At initiation the cleistocarp looks like a whitish, very small mass of mycelium (Fig. 2 g), which then turns to brown-yellow and, at last, develops a blackish color. The basal mycelial layer notably decreases at about the time of development of the black pigment in the cleistocarp.

The cleistothecium contains from 4 to 8, usually 6 or 8 asci (Fig. 2 i), which are irregularly ovate (one side more curved than the other), evidently stalked, range 50.4—88.2 $\times$ 27.3—46.2 μ; mode 67.1—68 $\times$ 37.1—38 μ; mean 66.31 $\pm$ 0.731 $\times$ 36.98 $\pm$ 0.376 μ. In each ascus there are from 3 to 5, usually 4, hyaline, ovate, non-septate ascospores, which have a range 16.8—29.4 $\times$ 8.4—16.8 μ; mode 24.1—25 $\times$ 12.1—13 μ; mean 23.2 $\pm$ 0.435 $\times$ 12.6 $\pm$ 0.179 μ.

The fungus under consideration clearly belongs to the genus *Erysiphe*, and according to Salmon (1900) it would represent *Erysiphe polygoni* DC. ex Mérat.

It is known that *Erysiphe polygoni*, in Salmon's sense, is a large and variable species, including numerous taxa which are considered distinct species, varieties or forms by other authors.

Without going deeply into the taxonomic matter, the *Erysiphe* commonly reported on *Umbelliferae* is *Erysiphe umbelliferarum* De Bary. According to De Bary (1870), this species differs only by the shape ("exacte cylindrica") of the conidia from *Erysiphe communis* (= *Erysiphe polygoni* in Salmon's sense).

Although cylindrical conidia are not considered peculiar to *Erysiphe umbelliferarum*, still the majority of authors have kept this species distinct from *Erysiphe communis*. In fact Jaczewski (1927), while admitting the difficulty in differentiating the two species, thinks that *Erysiphe umbelliferarum* must be differentiated from *Erysiphe communis*, not on the basis of a single feature but by a group of features, which according to the author are: elongate and cylindrical conidia; cleistothecia slightly flattened;

Fig. 2: a, vesicle-like haustorium in an epidermal cell ($\times$ 895); b, cleistothecia scattered on the surface of affected leaflet ($\times$ 27); c, cross-section of affected leaf showing the amphigenous cleistothecia ($\times$ 30); d, e, f, cleistothecia with appendages (respectively $\times$ 54, $\times$ 108, $\times$ 113); g protothecia ($\times$ 74); h cross-section showing the slightly flattened cleistothecia ($\times$ 177); i, crushed cleistothecium showing 8 asci with ascospores ($\times$ 143)

appendages rather short, generally branched and fragile, usually formed on the basal portion of the cleistocarp. BLUMER (1933) is of the same opinion and emphasizes the branching of the appendages.

All the above mentioned features have been found in the fungus under consideration. The conidia are, as a rule, elongate, cylindrical and with nearly flat ends, but sometimes slightly ellipsoidal conidia have been observed. With respect to the shape of the conidia it has seemed useful to consider the ratio between the length and the width. According to the findings of other researchers (BLUMER 1952, CICCARONE 1951, 1955), the size may be very variable but the shape and so the ratio between the length and the width is more constant. The mean of the length/width ratio is 2.93 (Table 1). As a rule the cleistothecia are flattened, although very slightly, with a ratio between the two diameters from 1.00 to 1.42.

Table 1

Length/width ratio of 100 conidia measured in distilled water

Class	Frequency
1.01—1.50	1
1.51—2.0	4
2.01—2.50	21
2.51—3.0	38
3.01—3.50	21
3.51—4.0	11
4.01—4.50	3
4.51—5.0	1

It is the writer's opinion that the use of morphological differences alone in distinguishing species in the *Erysiphaceae* may obscure true biological taxa as they exist in nature. Whether these taxa, differing among them in particular in their biological acitivity, should be considered different species or simply as varieties, forms or formae speciales of a morphological species is a taxonomic matter merely dependent on the author's personal point of view.

The writer hopes to have the possibility in the near future to investigate the biological differences probably existing among the "species" which seem to be morphologically close to the fungus on fennel.

On the basis of preliminary biological observations (e. g., infection only on fennel in fields interplanted with peas and other vegetables susceptible to *Erysiphe polygoni* in SALMON's sense, and vice versa), the writer feels it is advisable to treat the fennel powdery mildew as a separate taxon. Since his biometrical data are very close to those of KOMIRNA (1938) and fit BLUMER's and JACZEWSKI's diagnoses, the writer considers the fungus under consideration to be *Erysiphe umbelliferarum* De Bary.

Summary

Powdery mildew on fennel [*Foeniculum vulgare* 'Azoricum' (Mill.) Thell.] is reported for the first time in Italy, near Naples. The disease may be particularly severe in seed-beds, whereas in open fields it does not seem to be of great economic importance to the growers. The conidial and the perfect states of the causal fungus are described. On the basis of morpho-

logical and preliminary biological observations, the fungus causing the powdery mildew of fennel is considered to be *Erysiphe umbelliferarum* De Bary (= *Erysiphe polygoni* DC. ex Mérat sensu Salmon pro parte).

Zusammenfassung

Echter Mehltau auf Fenchel [*Foeniculum vulgare* ‚Azoricum' (Mill.) Thell.] ist zum erstenmal in Italien in der Nähe von Neapel gefunden worden. Die Krankheit kann besonders schwer in Saatbeeten auftreten, dagegen scheint sie auf Feldern keine großen Schäden für den Anbauer zu verursachen. Die Konidienform und die Fruchtform des Pflanzenparasiten sind beschrieben worden. Auf Grund morphologischer und vorläufiger biologischer Beobachtungen ist der Erreger des echten Mehltaus auf Fenchel als *Erysiphe umbelliferarum* De Bary (= *Erysiphe polygoni* DC. ex Mérat sensu Salmon pro parte) bestimmt worden.

Riassunto

Il "mal bianco" del finocchio [*Foeniculum vulgare* 'Azoricum' (Mill.) Thell.] è per la prima volta riportato in Italia, nelle vicinance di Napoli. La malattia può riuscire particolarmente dannosa in semenzaio, mentre in pieno campo non sembra rivestire particolare importanza. Sia la forma conidica che perfetta del fungo responsabile sono descritte. In base alla morfologia e ad alcune preliminari osservazioni biologiche, il fungo responsabile del "mal bianco" del finocchio viene considerato come *Erysiphe umbelliferarum* De Bary (= *Erysiphe polygoni* DC. ex Mérat sensu Salmon pro parte).

Acknowledgements

The author wishes to express his sincere appreciation to Professor M. Cristinzio, Head of the Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Naples, for his guidance during the early stage of these investigations. The valuable criticism and the helpful suggestions of Professor R. P. Korf have been deeply appreciated. Grateful acknowledgement is also extended to Professor H. E. Moore, Jr., of the Bailey Hortorium for substantial help in finding the correct botanical name of fennel and to Mr. H. Lyon, Photographer of the Department of Plant Pathology, Cornell University, for photographing figs. 2 a, h, and for printing many of the other pictures.

Literature cited

Bary, A. de, 1870: *Eurotium, Erysiphe, Cicinnobolus.* Nebst Bemerkungen über die Geschlechtsorgane der Ascomyceten. Abh. Senckenb. naturforsch. Ges. 7, 361—435.

Blumer, S., 1933: Die Erysiphaceen Mitteleuropas. Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz 7 (1), 1—483.

Blumer, S., 1952: Beiträge zur Spezialisation der Erysiphaceen. Ber. schweiz. bot. Ges. **6,2** 384—401.

Ciccarone, A., 1951: La „nebbia" del carciofo (*Cynara scolymus* L.) e del cardo (*Cynara cardunculus* L.). Boll. Staz. Pat. veg. Roma, ser. 3, **9**, 163—204.

— —, 1955: Indizi specializzazione del parassitismo in *Leveillula taurica* (Lév.) Arn. Not. Mal. Piante,**31—32** (N. S. 10—11), 165—173.

Foëx, Et., 1912: I. Les conidiophores des Erysiphacées (note préliminaire). II. De la présence de deux sortes de conidiophore chez *Oidiopsis taurica* Lév. III. *Oidium alphitoides* Griffon et Maublanc (OIDIUM DES CHENES). Ann. École Agric. Montpellier, S. 2, **11**, 246—264.

Joshi, N. C., 1958: Studies on powdery mildew of *Foeniculum vulgare* from Ajmer. I. Symptoms, morphology, spore germination, phenological relations and efficacy of sulphur dust against the disease. Agra Univ. J. Res. (Sci.) 7 (1), 87—91.

Jaczewski, A. A., 1927: Pocket key for the determination of fungi. Part 2. Powdery mildew fungi. Published by the A. A. Jaczewski Mycological Laboratory, State Institute of Experimental Agriculture, Leningrad, 626 pp. (In Russian).

Komirna, O. M., 1938: *Erysiphe umbelliferarum* D. B. f. *anethi* Jacz. on *Foeniculum officinale* All. Trav. Inst. Bot. Univ. Kharkoff **3**, 103—106. (In Russian.)

Salmon, E. S., 1900: A monograph of the *Erysiphaceae*. Mem. Torrey Bot. Club **9**, 1—292.

Scaramuzzi, F., 1956: La coltura ed il miglioramento del finnocchio dolce. Numero speciale rivista Ortofruttic. ital. (Orticultura italiana), **40**, 214—224.

Smith, G., 1900: The haustoria of the *Erysipheae*. Bot. Gaz. **29**, 153—184.

Section of Plant Physiology, Instituto Biológico, São Paulo, Brasil

The Spontaneous Occurrence of Strains of Potato Virus X and Y in South America

By

K. Silberschmidt

With 3 figures

Since strains of potato-virus Y, necrotic to tobacco, acquired a great economical importance as causes of serious diseases in the tobacco — and potato — producing countries of Central Europe, (8, 1956; 6, 1955; 5, 1957; 1, 1957; 11, 1959) several authors became interested in the problem of the origin of these strains. Earlier to the epidemic appearance of the necrotic strains in Germany, similar strains, but from isolated source plants, had been described by Smith and Dennis (1940), Nobrega and Silberschmidt (1941, 1944), and Bawden and Kassanis (1951).

The source plant for the virus described by Smith and Dennis (1940) could not be exactly determined. But Bawden and Kassanis (1951) mention expressly that their "tobacco veinal necrosis virus" had been isolated from a naturally infected potato plant collected in South America. The studies by Nobrega and Silberschmidt (1941, 1944) were performed in Brazil, but the source plants had been grown from tubers (of *Solanum andigenum*) which had been sent to the Biological Institute from Peru and Bolivia.

We have, therefore, reasons to suppose, that such strains occur spontaneously in those countries of South America, in which native varieties and species of potatoes are growing. From this point of view it seemed interesting to us to screen virus samples from various countries of South America and we were pleased, when Dr. Hans Ross, leader of the German Botanical-Agricultural Expedition into the Andes (1959), was kind enough to send us some samples of potato virus which he had brought back from his trip. This paper describes the results of the tests we have performed to identify the viruses contained in the samples. We are perfectly aware that the number of the samples is too small to be representative for a country or a geographical area. But in any case, the results may be considered as a contribution to the distribution of potato-viruses in South America.

MATERIAL AND METHODS

The samples of virus considered in this paper were sent to us on two occasions. On April first, 1960, we received one tuber each of 4 varieties of *Solanum andigenum.*

On June 21, 1960, an air letter arrived containing sprout and young leaves from 13 other source plants. It was supposed originally that Dr. H. Ross would send us only samples containing potato virus Y (= PVY).

Later on, we verified that many of the samples contained strains of potato-virus X (= PVX) either alone or together with an other virus. Also Dr. Ross in his letters confirmed that some of the samples were harbouring PVX. In accordance, we changed somewhat our original procedure in performing the tests.

For our original inoculations we had chosen principally as indicator species: *Nicotiana tabacum* White Burley, *Nicotiana glutinosa* and *Nicotiana rustica;* but in the successive transfers we made also use of *Datura stramonium, Gomphrena globosa, Chenopodium amaranticolor, Chenopodium murale, Petunia hybrida, Physalis floridana, Lycopersicum esculentum* and some other species. Since we wanted to know, if the strains of PVY, harboured by some of the samples, induced chlorotic or necrotic symptoms on White Burley tobacco plants infected with them and since in several cases there was the possibility that sap inoculations would transmit a mixture of PVX and PVY causing necrotic symptoms in tobacco, in all such doubtful cases we performed transmission experiments by means of insects, here by *Myzus persicae.* As that aphid transmits only PVY but never PVX, we are justified to consider White Burley tobacco plants displaying necrotic vein-clearing after being infected, by means of *Myzus persicae,* with one of our virus samples, as infected exclusively by a necrotic strain of PVY.

In identifying the strains of PVX and PVY harboured by the various potato-samples, we tried to characterize the symptom-pattern induced by each of the strains in several indicator-species.

At the same time we inoculated other plants of these same indicator species with "known" strains of the respective viruses. As "known" strains of PVX we used those called "Majestic" and "Eersteling", described by SILBERSCHMIDT, NOBREGA, and KRAMER (1941) and maintained since that time by successive inoculation in new batches of host-species.

The strains of PVY called "Piedade" and "Institut de Beauvais" and described by SILBERSCHMIDT (1956, 1957) were used for the same purpose (as "standard") with regard to unknown variants of PVY.

RESULTS OF OBSERVATIONS AND EXPERIMENTS

Table I contains the information, available to us, regarding the taxonomical position and the origin of the samples. For these indications we are indebted to Dr. HANS ROSS (personal communication and 13, 1960).

In the last column of the same table we condensed the results of our tests on the virus content of the samples.

A. Description of the strains of PVX harboured by the samples

As may be concluded from table I, 8 of the potato samples contained strains of PVX.

I) If we refer, in the first place, to the batch of samples (consisting of four potato tubers), which we received on April 1, 1960, we are sure that at least one of the samples, that is A 416, contains PVX.

Virus content of South American potato-samples

Number of sample (given by H. Ross)	type of potato	country of origin	locality where collected	Result of our virus-tests
A 416	*Solanum andigenum*	Bolivia	Cochabamba	X (weak strain).
A 422	*Solanum andigenum*	Bolivia	Cochabamba	?
A 1344	*Solanum andigenum* Packo Kawa	Bolivia	Belén	X irreg.
I 6533	*Solanum andigenum*	Bolivia	Lake Titicaca	Y (severe chlorotic).
A 213	cultivated	Bolivia	Tomina	Y (regular chlorotic).
A 263	cultivated	Bolivia	Padilla	X (weak strain).
A 578 d	*Solanum andigenum*	Bolivia	Achacachi (Lake Titicaca)	X (weak strain).
A 709 a/l	cultivated	Perú	Tacna	Y (necr. strain).
A 709 c	cultivated	Perú	Tacna	X (regular strain), + Y (chlorotic strain).
A 1130 a	cultivated	Equador	Guayaquil	X ?
A 1178	cultivated Maco	Perú	Junin	healthy.
A 1198	cultivated	Bolivia	Potosi	Y (necr. strain), + X (weak strain).
A 1260	cultivated	Bolivia	Cochabamba (Coll. Card.)	Y (weak, necr. strain).
A 1268	cultivated	Bolivia	Cochabamba (Coll. Card.)	healthy.
A 1272	cultivated	Bolivia	Cochabamba (Coll. Card.)	healthy.
A 1396	cultivated	Argentine	Aconquija (Capellitas)	X (regular strain).
I 6548	*Solanum wittmackii*	Perú	Lima	X (rather severe).

A. 4 1 6 : The tuber was planted in the green-house and gave origin to a large plant with slightly crinkled and pinched leaves; the leaf-blades did not show clear-cut symptoms.

In inoculation tests performed with sap of the original potato plant, on April 18, June 7 and 14, we observed slight systemic mosaic symptoms in plants of *Nicotiana tabacum*, White Burley, and *Nicotiana glutinosa*, symptoms of systemic veinbanding in *Datura stramonium* and very few local

lesions on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa*. By feeding apterous adults of *Myzus persicae* on the diseased potato plant and transferring the aphids to tobacco, we did not succeed in transmitting any virus disease to those test plants (June 15, 60).

On Dec. 14, 1960, we performed a further inoculation test with the purpose to compare this source of PVX with other strains. For this test we

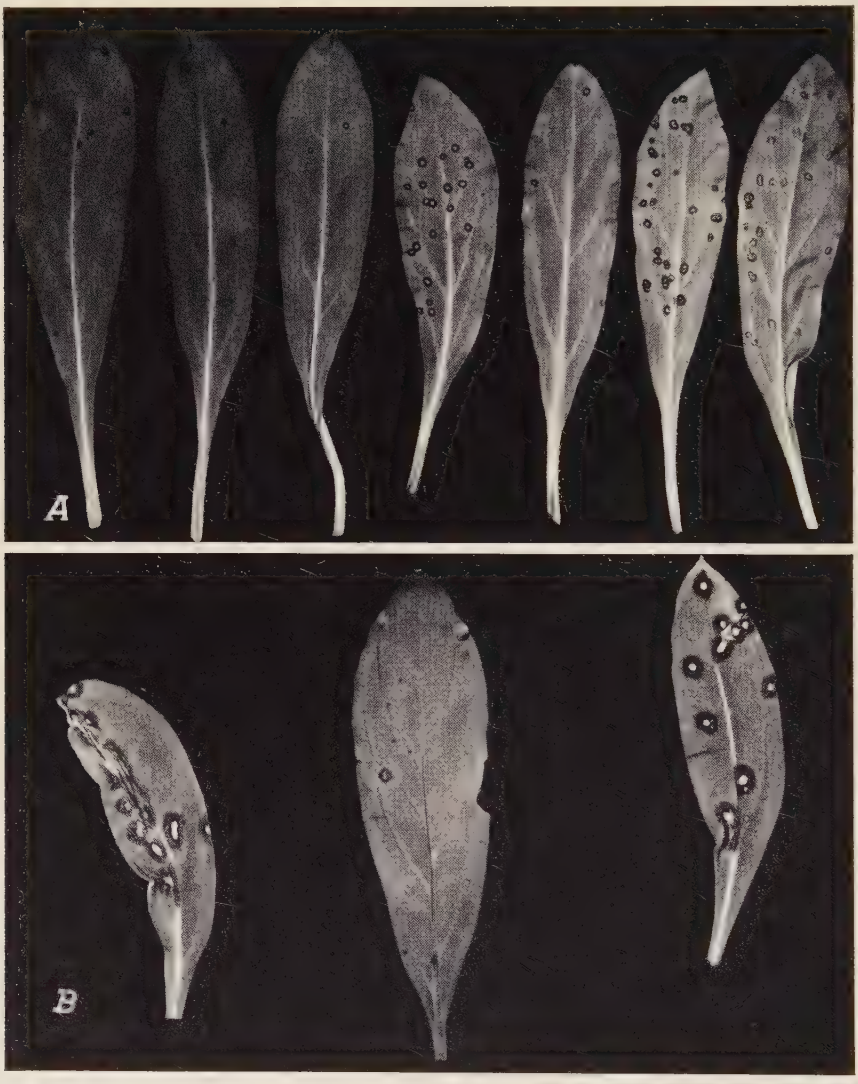


Fig. 1 A, Local lesions, induced on leaves of *Gomphrena globosa* by sap inoculation with samples of (from left to right): A 263, A 578 d, A 709 c, I 6548, A 416, Eersteling, Majestic.

Fig. 1 B, Local lesions, induced on leaves of *Gomphrena globosa* by sap inoculation with samples of (from left to right): Eersteling, A 1198, A 1396.

prepared sap from a plant of *Nicotiana glutinosa,* which had shown symptoms after being inoculated with sap of the original potato plant (test of April 18). Again in the experiment performed on Dec. 14, the mosaic symptoms induced in *Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa* and *Datura stramonium* were very slight. The result of the inoculation of a leaf of *Gomphrena globosa* with this virus sample is illustrated by fig. 1, A (3rd leaf from the right). The leaf exhibits a very few local lesions, whereas the two neighbour leaves (the one on the right inoculated with our Eersteling strain) display a large number of local lesions.

These observations lead us to the conclusion, that A 416 contains a weak strain of PVX and probably no other virus.

A 1344: From the tuber developed a large potato plant, exhibiting crinkled and rather small leaves. The older leaves displayed a diffuse veinbanding. Inoculation experiments, performed as reported for the sample A 416, resulted in well defined systemic mosaic symptoms in *Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa* and *Datura stramonium.* The same virus sample, however, induced either no symptoms at all or very few and small lesions in the inoculated leaves of *Gomphrena globosa.* By the insect vector *Myzus persicae* we were not able to transmit any virus from the potato plant to tobacco. In the oculation experiment, performed on Dec. 14, with the purpose to compare this sample with better known strains of PVX, we obtained again slight systemic mosaic symptoms in *Nicotina tabacum* White Burley and in *Nicotiana glutinosa* and very few, small necrotic spots without halo on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa.* We believe, that the sample contains a very weak strain of PVX, possibly slightly different from other strains, but no insect-transmissible virus.

A 422: The tuber failed to sprout so that we missed the opportunity to study the virus content of that sample.

II) We shall pass now to the descriptions of strains of PVX, contained in the material received from Dr. Ross on June 21.

Since in this case, we received no potato tuber, but only young sprouts, we can not describe the symptoms displayed by the potato plants.

Inoculation tests with all the 13 samples we had received were performed on June 21; further transfers of the infectious agents contained in the samples were made on July 9 and 25, on September 12 and on December 9 and 14. Where other tests were needed, they are specially mentioned in the course of the description of the individual samples.

A 263: This sample induced slight mosaic symptoms (and "pearl-pattern" on older leaves) in *Nicotiana tabacum* White Burley, very striking irregular, almost whitish systemic mosaic symptoms in *Nicotiana glutinosa,* chlorotic spots and rings on the inoculated leaves of *Chenopodium amaranticolor* and a regular number of local lesions on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa.* In the final comparative test we could further observe slight systemic veinbanding in *Datura stramonium,* local necrotic lesions on

Chenopodium quinoa, and few, but clear-cut local lesions on *Gomphrena globosa.*

In fig. 1, A, this sample is represented by the first leaf on the left, displaying a few local lesions.

The sample contains a regular (not very severe) strain of PVX.

A 578 d: This sample induced symptoms on the same host species, mentioned in the course of the description of the preceding sample A 263; the symptoms were, however, milder than those caused by A 263. Fig. 1 A shows on the second site from the left a leaf of *Gomphrena globosa* inoculated with the sample 578 d and displaying just one fully developed necrotic lesion. We could conclude from these experiments, that the strain of PVX harboured by the sample 578 d is very mild.

A 709 c: With this sample we performed a greater number of tests than with the former ones, since in one of the early inoculation experiments with this sample, the tobacco plants displayed necrotic symptoms. This made us suspect the presence of more than one virus in the same sample. Here we shall try to characterize only the strain of virus X harboured by the sample.

We base our description on the symptoms produced by sap maintained 10 minutes at 60 °C and considered free from PVY. The sap treated by this method in the inoculation tests performed on September 26 induced regular systemic, whitish mosaic symptoms in *Nicotiana glutinosa* and a good number of necrotic lesions on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa.* In the final comparative test of December 9, for which normal, nonheated sap of another source plants was used, we could observe systemic veinbanding symptoms in *Datura stramonium,* necrotic local lesions in *Chenopodium murale* and few, but clear-cut local lesions on *Gomphrena globosa.*

In fig. 1, the third leaf from the left (displaying 2 distinct lesions) represents the result of the inoculation with the sample A 709 c, considered by us to contain a weak or average strain of PVX, beside a virus to be considered under another headline.

A 1198: Since the sap, prepared from sample A 1198 already in the first tests induced necrotic veinclearing symptoms in inoculated plants of *Nicotiana tabacum* White Burley, and since the same symptom pattern was displayed also by tobacco plants inoculated by means of the insect vector *Myzus tabaci,* during a certain time we failed to suspect the presence of a second virus in sample A 1198. By additional tests, however, it could be shown that sap prepared from sample A 1198 induces a slight systemic veinbanding in *Datura stramonium* and a few local lesions on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa.* The lesions caused by this sample on *Gomphrena globosa* usually are small and expand very slowly.

We consider the sample of PVX, harboured by A 1198, a rather weak strain of that virus, comparable to the one contained in A 709 c. A leaf of *Gomphrena globosa,* inoculated with sap containing the strain A 1198, is illustrated in fig. 1 B, center.

A 1396: Although the first inoculation tests performed with sap of a very small leaf sample, resulted only in mild systemic symptoms displayed by plants of *Nicotiana tabacum* White Burley and *Nicotiana glutinosa*, later experiments induced systemic veinbanding in *Datura stramonium*, necrotic primary lesions, surrounded by a yellow halo, in *Chenopodium murale*, a very conspicuous systemic mosaic, consisting in yellow rings on the older leaves in *Solanum melongena* and a fair number of necrotic lesions on the inoculated leaves of *Gomphrena globosa*.

Fig. 2 B, shows on the right a leaf of that host species displaying local lesions caused by the sample A 1396, on the left a comparable leaf inoculated with our standard strain "Eersteling". (The effect of the same standard strain is also shown on the second leaf from the right, fig. 1 A.) From these observations we may conclude that sample A 1396 contains an average (rather severe) strain of PVX.

I 6548: Sap containing virus of this sample caused symptoms in the same host plants mentioned under the heading of the proceeding sample; (*Chenopodium murale* and *Solanum melongena* were not included in the tests with the present strain). The symptoms induced by the causal agent harboured by sample I 6548 were generally more severe than those caused by sample A 1396. In the comparative test, performed on December 14, the strain I 6548 produced — beside the severe systemic mosaic pattern in tobacco and in *Nicotiana glutinosa* — systemic veinbanding in *Datura stramonium*, necrotic local lesions in *Chenopodium amaranticolor* and a fair number of necrotic local lesions (fig. 1 A, center) in inoculated leaves of *Gomphrena globosa*.

From our observations we concluded that the strains of PVX, corresponding to the samples A 1396 and I 6548 are rather alike and clearly more severe than the other 6 samples of PVX sent to us by Dr. Ross. The two stronger strains isolated from tubers, collected in Argentine and Perú (coast) respectively, have much in common with the strains used by us as "standards". The relative efficiency of our "standard" strain Eersteling in producing local lesions on inoculated leaves of *Gomphrena globosa* has already been pointed out. The result of an inoculation test with the second of our "standard" tests, Majestic, is illustrated in fig. 1 A (first leaf on the right).

In the preceding description we failed to mention a few of the samples which we had received from Dr. H. Ross.

A 1130a: Induced in one of the tests and only in one tobacco plant very mild symptoms of the type sometimes related to PVX. But since in none of the successive tests sap from that sample induced any symptoms, we consider it free from virus.

A 1178, A 1268 and A 1272, from the very first tests on failed to induce any symptoms in the inoculated plants and are considered by us as not harbouring sap transmissible virus.

B. Description of the strains of PVY harboured by the samples

I, I 6533: The potato tuber, designated by this number, belonged to the first group of samples, which we received. Planted (on April 4, 1960) in sterilized soil in a flowerpot, kept in our greenhouse, it gave rise to a small, weak plant bearing leaves with clearcut mosaic-symptoms. The plant died early without producing any tuber.

With sap of leaves from that potato plant on April 18, 1960 we inoculated a set of plants of various indicator species. We could not observe any symptoms on the inoculated plants of *Gomphrena globosa* or of *Nicotiana glutinosa*. The virus induced, however, a systemic disease in *Nicotiana tabacum* White Burley, consisting in a darkgreen and milkywhitish veinbanding ("veinbanding leitoso") of the kind which we have described in earlier publications for our strain "Institut de Beauvais". Tomato plants inoculated with the sample I 6533 displayed a slight rugose mosaic. On August 18, we succeeded in transmitting the virus from tobacco to tobacco, by means of the insect-vector *Myzus persicae*. The tobacco plants, infected by this way displayed again a rather severe, however chlorotic systemic mosaic, characterized specially by veinbanding.

On Nov. 21, we performed inoculation tests with this and a series of other samples of PVY with the purpose to compare the symptoms induced by I 6533 with those caused by other strains.

Fig. 2 A, left, taken 10 days after the inoculation, shows a mild clearing of the veins on the young leaf, a symptom somewhat slighter than that on the neighbour plant (center), which had been inoculated with strain "Institut de Beauvais".

Also in the later stages of the disease the tobacco plants (Fig. 3 A, first leaf on the left, bottom row) showed well-defined, but not too severe chlorotic symptoms, not as mild as those induced by the "Piedade"-strain and not fully as harmful as those caused by the strain "Institut de Beauvais".

In this same experiment local symptoms in the form of necrotic spots were induced by the strain I 6533 on *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium murale* and *Physalis floridana*. Slight systemic chlorotic symptoms — quite different from those characteristic for the "Piedade"-strain — were displayed by infected plants on *Nicotiana glutinosa*. *Physalis floridana* which is a very good indicator species for the "Institut de Beauvais" strain (displaying an abscission of the leaves and severe necroses of the fruits, whereas the "Piedade" strain apparently does not produce any symptoms in this host species), shows an intermediate behaviour with regard to the strain of PVY harboured by sample I 6533: The infected plant shows some stunting (contrary to the comparative one infected with the "Piedade" strain), but only slight necroses on the fruits (which are entirely shrivelled on plants infected by the "Institut de Beauvais" strain). *Nicotiana rustica*, which reacts against the "Piedade" strain with a severe systemic veinbanding (leading to deformation and blistering of the leaf-blade), after infection by I 6533 shows

only a very mild systemic mosaic. Potato seedlings (*Solanum andigenum*) were rather resistant against sap inoculation with this strain of PVY.

We consider therefore I 6533 an average chlorotic strain of PVY, intermediate in its pathogenic effect between the strains "Piedade" and "Institut de Beauvais".

II, A 213: Turning now to the variants of PVY, which we received with the second collection of samples, we found already in the first inoculation test, performed on June 21, that the potato sample A 213 harbours a mild chlorotic strain of PVY.

Tobacco White Burley plants, inoculated with sap containing A 213, display, after a relatively extensive latent period, a slight systemic mosaic consisting principally in a diffuse veinbanding.

From our comparative test, performed on November 21 we learned, that the first symptoms displayed by infected tobacco plants consist in an extremely mild clearing of the veins. Fig. 2 B, right, shows a representative of the White Burley variety 10 days after the inoculation with A 213. The

Fig. 2, Early symptoms of veinbanding induced in *Nicotiana tabacum* White Burley by sap inoculation with samples of (from left to right).

Fig. 2 A: I 6533, Institut de Beauvais, 709 c.

Fig. 2 B: A 1260, Institut de Beauvais, A 213.

clearing of the veins is still almost unperceptible and milder than on the neighbour plant, infected with the strain "Institut de Beauvais". The comparative tobacco plant, carrying the strain "Piedade" did not yet display any symptoms, on the day when the picture was taken. Later on, the White Burley plants, containing virus of the sample A 213 showed a veinbanding involving only few veins and those not along their full extension. It resembles in this respect the symptoms induced by the "Piedade" strain, but in the case of A 213, the veinbanding is still more diffuse and more scattered (Fig. 3 A, first leaf at the left, top row). On the other hand, the tobacco plants infected with A 213 are slightly more stunted than the corresponding plants infected with "Piedade". Comparing tobacco plants harbouring A 213 with White Burley plants infected with the strain "Institut de Beauvais" (Fig. 3 A, center leaf, top row), we find that the latter show more chlorosis, crinkling and deformation of the leaf blade than the former.

Other host species of the virus sample A 213 are *Nicotiana glutinosa* and *Nicotiana rustica*, both of which are characterized by very mild systemic mosaic (slighter than the symptoms caused in these hosts by "Institut de Beauvais") and *Nicandra physaloides* which displays after infection with virus A 213 both local (brown necrotic spots) and systemic symptoms. By inoculating *Chenopodium amaranticolor* and *Chenopodium murale* with the same virus sample we succeeded only in inducing a small number of yellow and white (respectively) necrotic rings on the inoculated leaves. *Physalis floridana*, which, as we have mentioned before, is a symptomless carrier of the "Piedade" strain, but reacts by leaf abscission and fruit necrosis against the strain "Institut de Beauvais", shows an intermediate behaviour, after inoculation with A 213. Infected plants drop some of their leaves and display chlorotic and necrotic spots on medium and young leaves and on fruits. The reaction of the plant to this virus is very similar to that against "Institut de Beauvais", but slightly milder.

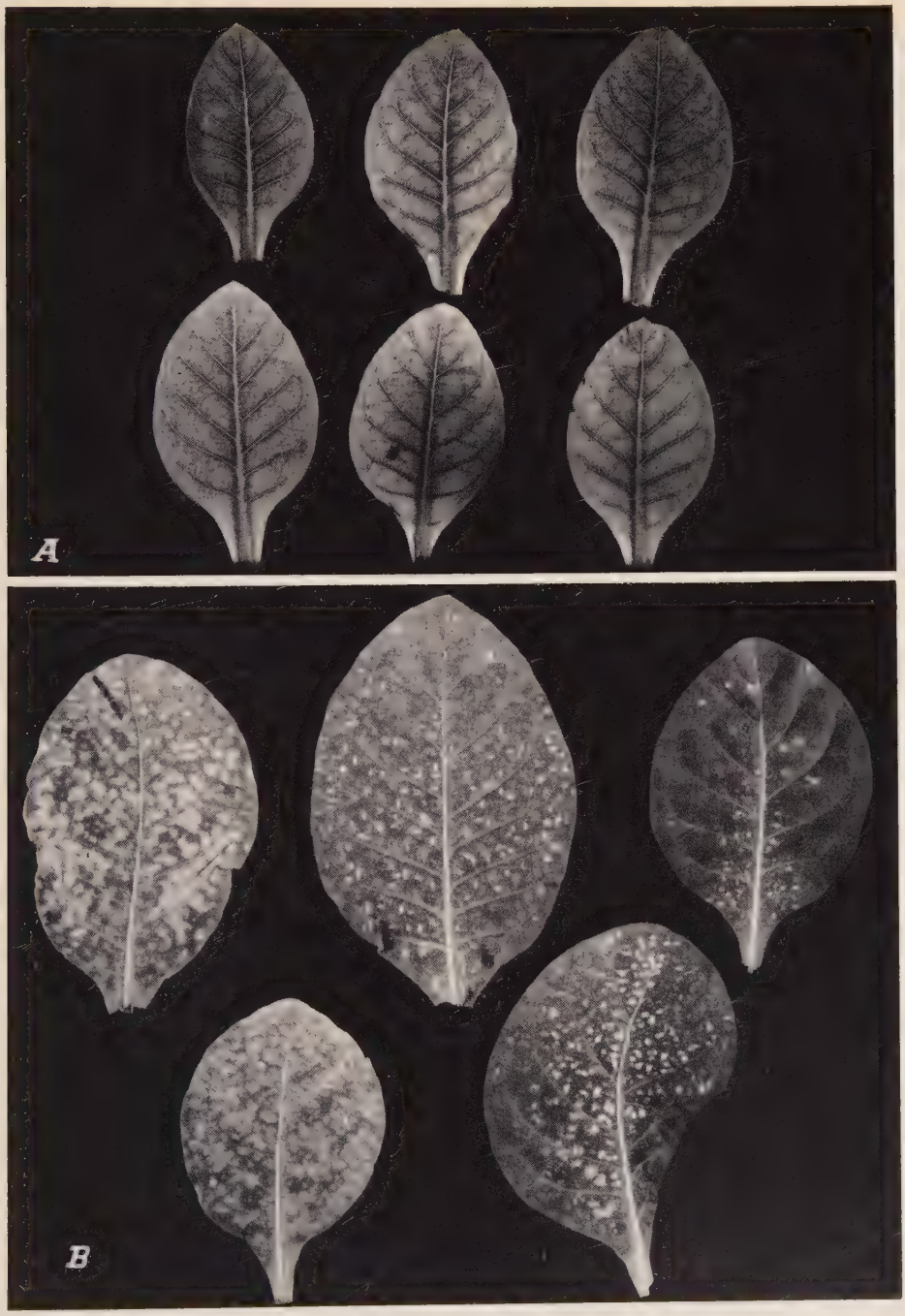
Another difference between A 213 and both our standard strains of PVY consists in the fact, that potato seedlings (of the Columbian varieties of *Solanum andigenun* Tocana and Tucarreña) were rather susceptible to the strain A 213, in any case much more than to our "standard" strains.

A 7 0 9 c : Our observations regarding the presence of a variant of PVX in this sample have been reported in the respective chapter. We were originally inclined to assume, that the sample of potato foliage which we had

---

Fig. 3 A, Late symptoms of veinbanding induced in *Nicotiana tabacum* White Burley by sap inoculation with samples of (from left to right);
top row: A 213, Institut de Beauvais, Piedade.
bottom row: I 6533, A 1260, A 709 c.

Fig. 3 B, Necrotic systemic symptoms induced in *Nicotiana tabacum* White Burley by sap inoculation with samples of (from left to right).
top row: A 709 AI, A 1198, A 1260.
bottom row: Fina, German strain kindly provided by Dr. O. BODE.


A
B

received, harboured no other virus but a strain of PVX. But one of the tobacco plants, included into the first inoculation test, displayed more pronounced mosaic symptoms than usually are presented by tobacco plants infected with single strains of PVX. That induced us to try to transmit virus from those originally infected tobacco plants to healthy White Burley plants by means of *Myzus persicae*. In these tests, performed on August 2 and 9 and on September 6, we succeeded indeed, in transmitting to the tobacco plants a disease characterized by pronounced systemic mosaic symptoms.

In the comparative test (performed on November 22 with sap of a plant infected by means of the insect vector) the infected plants of *Nicotiana tabacum* White Burley showed a veinbanding similar to that displayed by plants harbouring the "Piedade"-strain (Fig. 3 A, leaf at the right, bottom row). But the leaves of tobacco plants infected with A 709 c show pronounced chlorotic spots beside the veinbanding and the plants are somewhat stunted. *Nicotiana glutinosa* reacts to the infection by this strain of PVY with a systemic crinkling and mottling, that means by more severe symptoms than are shown even by plants of this host species infected with the strain "Institut de Beauvais". *Nicandra physaloides* and *Chenopodium amaranticolor* showed irregular grey necrotic spots on the inoculated leaves and very slight systemic mosaic symptoms. *Nicotiana rustica* and *Physalis floridana* displayed extremely mild, if any systemic mosaic symptoms. Seedlings of *Solanum andigenum* could easily be infected by sap inoculation with this strain of PVY.

III, In this chapter we are going to describe the representatives of PVY, which, in absence of PVX, induced necrotic veinclearing in inoculated tobacco plants.

A 1 2 6 0 : Already in the first test (June 21), tobacco plants inoculated with sap containing the virus harboured by sample A 1260 displayed a necrotic clearing of the veins and a few necrotic spots on the leaf blade. During some time we suspected that the sample A 1260 might be a source for both the PVX and PVY. But our experiment of September 16, proved that even tobacco plants inoculated with this strain by means of the insect vector may display some necrotic veinclearing. In repeated transfers, from source plants, infected with insect vectors, the necrotic symptoms in tobacco were maintained (Fig. 3 B, leaf at the right, top row). Besides, in our successive tentatives using sap containing sample A 1260, (Dec. 14 and 21, 1960), we never succeeded in inducing symptoms in *Datura stramonium* or *Gomphrena globosa*. Thus we are convinced that A 1260 harbours a strain of PVY, slightly necrotic to tobacco. As it is common in necrotic strains, the systemic chlorotic symptoms, which are displayed by tobacco plants in the chronic phase of the disease, are very mild, consisting in diffuse veinbanding.

The same virus strain induced primary necrotic leasions (but no systemic symptoms) in *Nicandra physaloides* and in *Chenopodium amaranticolor* and a slight systemic mosaic and leafcrinkling-similar in severity to that produced by the strain "Institut de Beauvais" — in *Nicotiana glutinosa*. In

our tests, (involving a limited number of plants), *Nicotiana rustica, Chenopodium murale* and *Physalis floridana* after inoculation with this strain did not exhibit any disease symptoms. With regard to potato, we succeeded with a certain difficulty in infecting seedlings of *Solanum andigenum* by sap inoculation with this strain of PVY.

A 7 0 9 a I : Also the virus, contained in this sample, already in the first test (June 21) induced necrotic systemic veinclearing in tobacco plants. This same symptompattern (to which belongs also the appearance of scattered necrotic spots on the tip of younger leaves), could be observed also in plants of the same species, inoculated by means of the insect vector (test of August 9, 60). The necrotic symptoms caused by this strain in tobacco White Burley, although being conspicuous only in the acute phase of the disease, are severer than those caused by the sample A 1260 (Fig. 3 B, leaf at the left, top row). In *Datura stramonium* and *Gomphrena globosa* this strain failed consistently in inducing symptoms. *Nicotiana glutinosa* exhibited a slight systemic disease, characterized by chlorotic clearing of the veins and mild veinbanding. We succeeded also in infecting seedlings of *Solanum andigenum* by means of the insect vector *Myzus persicae* with this strain of PVY.

A 1 1 9 8 : In our first test (June 21), all the tobacco plants inoculated with this sample came to display very severe systemic symptoms of necrotic veinclearing. On the leaves of *Gomphrena globosa,* inoculated with this same sap we could not observe any necrotic symptoms, but plants of *Nicotiana glutinosa,* included in the same experiment, presented on the younger leaves systemic symptoms in the form of pronounced chlorotic (almost white) spots of the type, which is frequently observed in plants of *Nicotiana glutinosa,* infected systemically with PVX. In fact, our tests performed on December 21 and 27, 1960, proved that our sample A 1198 contains a mild strain of PVX, beside a strain of PVY necrotic on tobacco.

This strain of PVY, transmitted to tobacco by means of the insect vector *Myzus persicae,* even without the presence of any trace of PVX, induced in this host species in the tests of Aug. 2 and 26, and of Sept. 6, 1960, rather severe systemic symptoms consisting of necrotic clearing of the veins and necrotic whitish spots on the tips of younger leaves. (Fig. 3 B, center leaf, top row).

The same strain produces a slight systemic chlorotic mosaic with crinkling of the leaves, in *Nicotiana glutinosa.*

DISCUSSION

1) Occurrence of PVX and PVY in South America

Neither PVX nor PVY has a very limited geographical distribution. Still it may be said without any exaggeration that PVX has been and still is very common in certain potato varieties in the U.S.A., whereas PVY is

frequently found in potatoes coming from Europe. With regard to the occurrence of both those viruses in South America and specially in the region of the Andes, we still agree with what was stated by us in an earlier paper (16, pg. 415, 1954): "The region of the Andes, the mot[illegible] country of the potato, may be considered the center of dissemination o[illegible]e most common virus diseases ... So we find in the Andes potato viruses [illegible] and Y.

2) The virus-content of "wild" and "cultivated" potatoes

We found viruses of both types in wild as well as in cultivated potatoes. Among the (— very few —) samples of "wild" potatoes, which were represented in our collection, PVX was more commonly found than PVY. By cultivated varieties both viruses were harboured to an approximately equal extent. On the other hand, none of the "wild" potatoes could be shown to carry more than one virus, whereas 2 of the cultivated potato samples harboured strains of both viruses. This is not surprising, since "wild" potatoes grow more isolated and escape easier the visit by viruliferous aphids than "plantations" of potatoes.

3) Degree of severity of strains of PVX

Our observations show, that most of the strains of PVX, specially the ones isolated from samples collected in high altitudes and in the central region of the Andes, are rather mild (on tobacco).

Also these results would, to a certain extent, agree with earlier observations. NOBREGA and SILBERSCHMIDT (1941) studying the virus content of potato samples from Perú, came to the conclusion that 3 of the "varieties" contained, indeed, a strain of PVX, but that this strain induced very mild symptoms in tobacco. Also later on, when concerned with the virus concent of potatoes collected in Columbia (SILBERSCHMIDT 1948, pg. 308) we found in one of the commercial varieties a strain of PVX inducing mild symptoms in tobacco.

The two only samples of the collection, presently under study, harbouring regular or severe strains of PVX came from the southern region of the Andes (A 1396) or from the coast of Perú (I 6548). Considering the limited number of samples at our disposal, that may be a chance-observation, but it should not be overlooked.

4) Frequency and site of occurrence of the strains of PVY, necrotic to tobacco

Among the 6 "isolates" of PVY, found in the South-American potato-samples, 3, that means 50 %, induced necrotic symptoms in White Burley tobacco. Two of the samples containing "necrotic strains" came from Bolivia (Cochabamba resp. Potosi), the remaining one from Tacna, Perú, near the border of Bolivia and Chile. It seems, therefore, that these strains occur principally in the central part of the Andes. That would be again in good agree-

ment with some of our earlier observations: The first of the sample shown by NOBREGA and SILBERSCHMIDT (1941) to contain a strain of PVY inducing necrotic symptoms in tobacco, came from Central Perú, most of the later samples, contain similar strains (SILBERSCHMIDT 1954) from Cochabamba, Bolivia.

Comparing the "new" strains of PVY, necrotic in tobacco with those, isolated on earlier occasions, with regard to severity of symptoms induced in tobacco, we may state that under the conditions of our greenhouse they caused mild or average symptoms. We compared them with a few samples, isolated from German seed-potato-varieties like "Fina" (Fig. 3 B, leaf at the left, bottom row) imported into Brazil and found that the virus contained in the sap of the South-American potato samples caused not too severe necrosis (perhaps except sample 709 AI) and induced only a very slight browning of the leaf-petioles, whereas sap of the mentioned potato-varieties from Europe in plants of the same species induced a more pronounced darkening of the petiole.

5) No strains of PVY, causing vein necrosis, native in Brazil

Most of the strains of PVY necrotic to tobacco, which have been described by us and have been quoted in the present paper have been isolated from samples, which we had received from other countries and which not had been collected in Brazil. We want to insist in this point, since KOEHLER (1955) quoting for the first time our observations on the necrotic strains of potato-virus Y from Perú in the European literature referred simply to a necrotic disease of tobacco described in South-America; this statement may later on have induced himself and other authors to suppose, that in our case the description of the necrotic strain had been made in the same country, where the potato sample had been collected. Thus, for instance, AUBERT (1957) writes: "Quelques années plus tard, au Brésil, la 'necrose das nervuras' est observée et étudiée par NOBREGA et SILBERSCHMIDT". And finally, more recently, KÖHLER himself (1960 pg. 4) stated: "In Brasilien sind derartige Stämme — neben denen des herkömmlichen Y — offenbar schon länger endemisch". Therefore we want to stress once more, that the samples to which KÖHLER and AUBERT refer, had been collected in Perú and Bolivia.

As a matter of fact, in Brazil, we isolated one strain of PVY necrotic to tobacco from a solanaceous plant grown spontaneously in the neighbourhood of São Paulo. This strain, described by SILBERSCHMIDT, ROSTOM, and MATTOS ULSON (1954), induces necrotic spots on leaves of *Nicotiana tabacum* W. B., but no vein necrosis. It is this same strain, which has been later on compared from the pathological as well as the serological point of view with other strains of PVY by BARTELS (1957) who found it quite distinct from other (even the necrotic) strains of PVY. The similarity of this strain to the strains of PVY causing vein necrosis in tobacco, was therefore less pronounced than we had supposed (SILBERSCHMIDT 1954, pg. 417).

It was also this same strain, which we sent to Prof. R. LARSON. Although it has been called by him VN (vein-necrosis), I do not consider this name as completely adequate to describe the symptom-pattern induced by this strain in tobacco White Burley. The principal symptoms consist in pale, seminecrotic spots on the leaf-blade between the secondary veins.

This is shown by the excellent pictures, which illustrate the paper by EASTON, LARSON, and HOUGAS (1958).

Until the present moment we have no knowledge of the spontaneous occurrence in Brazil of strains of PVY, causing typical symptoms of vein-necrosis.

Zusammenfassung

1. Für Virusstudien erhielten wir von Herrn Privatdozent Dr. HANS ROSS, (Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang), Leiter der Deutschen Botanisch-Landwirtschaftlichen Anden-Expedition 1959, 2 Sendungen von virusverdächtigem Kartoffelmaterial.

Die erste Sendung umfaßte 4 Kartoffelknollen (Tochterknollen von Pflanzen, die in den Kölner Gewächshäusern aus den in Südamerika gesammelten Kartoffeln herangezogen worden waren), während die zweite Sendung aus Stengeln und jungen Sprossen von 13 weiteren Herkünften bestand.

2. Die Tabelle enthält Angaben (die wir großenteils der Freundlichkeit von Herrn Dr. ROSS verdanken), hinsichtlich der systematischen Zugehörigkeit und des ursprünglichen „Habitats" der übersandten Kartoffelproben sowie (in der letzten Spalte) hinsichtlich des von uns in den Proben festgestellten Virusgehaltes.

3. Aus der Tabelle (und der Beschreibung unserer Versuche) geht hervor, daß 8 unter den 17 Kartoffelherkünften Stämme des Kartoffelvirus X, 6 Stämme des Kartoffelvirus Y enthielten.

4. Die Mehrzahl der isolierten Stämme des Kartoffelvirus X riefen auf *Nicotiana tabacum* White Burley und auf *Gomphrena globosa* recht schwache Symptome hervor (s. Abb. 1). Dies trifft namentlich für die Virusstämme zu, die von Kartoffelherkünften aus der zentralen Region der Anden stammen.

5. Eine Ausnahmestellung nehmen nur die Virusstämme ein, die aus den Südanden (A 1396) oder aus der peruanischen Küstenregion (I 6548) stammen.

6. Unter den 6 Abimpfungen des Kartoffelvirus Y riefen 3 auf *Nicotiana tabacum* White Burley chlorotische Symptome hervor. Die Kartoffelproben, die nekrotische Stämme enthielten, kamen aus der zentralen Region der Anden (s. Abb. 2 und 3).

7. In den (wenigen) Proben von Wildkartoffeln, die uns zur Verfügung standen, wurde, wenn überhaupt, jeweils nur ein Typ von Virus festgestellt; zwei der von uns untersuchten Proben von Kulturkartoffeln (A 709 c und A 1198) enthielten aber sowohl Kartoffelvirus X als Y.

8. In der Diskussion werden unsere Beobachtungen hinsichtlich der Verbreitung beider Kartoffelviren in Südamerika mit früheren Ergebnissen verglichen und einige Schlüsse gezogen hinsichtlich der wahrscheinlichen Herkunft der Stämme des Kartoffelvirus Y, die auf Tabak Adernnekrose hervorrufen.

9. In diesem Zusammenhang wird entgegen mißverständlichen Angaben der Literatur betont, daß derartige Stämme spontan in Brasilien noch nie angetroffen worden sind.

Literature cited

1. Aubert, O., 1957: La nécrose des nervures, maladie à virus du tabac. Rev. rom. Agric., Vitic., Arboric. **13**, 61—63.
2. Bartels, R., 1957: Serologische Differenzierungsversuche mit Stämmen des Kartoffel-Y-Virus. Proc. of the third Conference on Potato Virus Disease, Lisse-Wageningen, 13—19.
3. Bawden, F. C., and B. Kassanis, 1951: Serologically related strains of potato virus Y that are not mutually antagonistic in plants. Ann. appl. Biol. **38**, 402—410.
4. Easton, G. D., R. H. Larson, and R. W. Hougas, 1958: Immunity to virus in the genus *Solanum*. Univ. Wisconsin Res. Bull. **205**, 32 p.
5. Klinkowski, M., und K. Schmelzer, 1957: Beiträge zur Kenntnis des Virus der Tabakrippenbräune. Phytopath. Z. **28**, 285—306.
6. Köhler, E., 1955: Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **23**, 328—334.
7. — —, 1960: Die Viruskrankheiten der Kartoffel, nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung. Angew. Bot. **34**, 3—27.
8. Kovachevsky, I. C., 1956: Viruskrankheiten der Kulturpflanzen in der Volksrepublik Bulgarien. Pflanzenschutzkongreß Berlin, Kongreßbericht, 67—82.
9. Nobrega, N. R., e K. Silberschmidt, 1941: Estudo sobre o estado sanitário de algumas variedades de batatinhas peruanas. O Biologico (São Paulo, Brasil) **7**, 243—248.
10. — —, e — —, 1944: Sôbre uma provavel variante do virus „Y" da batatinha (*Solanum* virus 2, Orton) que tem a peculiaridade de provocar necroses em plantas de fumo. Arqu. Inst. Biol. (São Paulo, Brasil) **15**, 307—330.
11. Ross, H., 1959: Über die Verbreitung der Tabakrippenbräunestämme des Y-Virus der Kartoffel (*Marmor upsilon* Holmes var. *costaenecans* Klinkowski u. Schmelzer) in Deutschland und anderen Ländern. Phytopath. Z. **35**, 97—102.
12. — —, 1960: Die Praxis der Züchtung auf Infektionsresistenz und extremer Resistenz (Immunität) gegen das Y-Virus der Kartoffel. Europ. Potato J. **3**, 296—306.
13. Rudorf, W., H. Ross, R. Rimpau, L. Diers, 1960: Bericht über die Deutsche Botanisch-Landwirtschaftliche Anden-Expedition 1959 (Mimiographed).
14. Silberschmidt, K., N. R. Nobrega e M. Kramer, 1941: Sôbre as variantes do virus X das batatinhas no Estado de São Paulo. Arqu. Inst. Biol. (São Paulo, Brasil) **12**, 27—58.
15. — —, 1948: Observações sôbre o teor de virus de batatinhas colombianas. Arqu. Inst. Biol. (São Paulo, Brasil)) **18**, 289—312.
16. — —, 1954: Potato viruses in the Americas. Phytopathology **44**, 415—420.

17. SILBERSCHMIDT, K., E. ROSTOM and C. MATTOS ULSON, 1954: A strain of potato-virus Y inducing local and systemic necrotic spots on leaves of tobacco White Burley. Amer. Potato J. **31**, 213—217.

18. — —, 1956: Uma doença do tomateiro em Piedade, causada pelo virus Y da batatinha. Arqu. Inst. Biol. (São Paulo, Brasil) **23**, 125—150.

19. — —, 1957: Cross-protection- ("premunity") tests with two strains of potato-virus Y in tomatoes. Turrialba **7**, 34—43.

20. SILBERSCHMIDT, K. M., 1960: Types of potato virus Y necrotic to tobacco: history and recent observation. Amer. Potato J. **37**, 151—159.

21. SMITH, K. M., and R. W. G. DENNIS, 1940: Variant of *Solanum* virus 2 (potato virus Y). Ann. appl. Biol. **27**, 65—70.

Kurze Mitteilung

Aus dem Institut für Botanik der Biologischen Bundesanstalt, Braunschweig

Ein Beitrag zum Verhalten von Biotypen in Biotypengemischen von *Puccinia triticina* Erikss. (*P. recondita* Rob. ex Desm.)

Von

K. Hassebrauk

Nachdem die Bildungsmöglichkeit neuer Biotypen durch vegetative Kernmischung und Rekombination beim Schwarzrost mehrfach nachgewiesen worden war, gelang es Vakili und Caldwell, auch bei *Puccinia triticina* aus Kulturen von Rassengemischen neue Biotypen zu gewinnen, deren Entstehung auf derartige Vorgänge zurückgeführt werden mußte. Eigene Versuche in dieser Richtung mit einem Gemisch der Rassen 20 und 52 von *P. triticina* verliefen insofern ergebnislos, als neue Rassen nicht auftraten. Bei Verimpfung des Gemisches auf Weizensorten reziproker Resistenz für die eine oder andere Rasse resultierte stets nur die Rasse, für die die betreffende Sorte anfällig war. Die Untersuchungen boten aber, zunächst ungewollt, Gelegenheit, das Verhalten des Rassengemischs nach längerer Weiterkultur auf einer für beide Rassen hoch anfälligen Sorte zu beobachten.

Die von mir verwendeten Rassen 20 und 52 geben auf den Testsorten folgendes sehr unterschiedliches Infektionsbild:

Rasse	Mal.	Car.	Brev.	Webst.	Lor.	Medit.	Huss.	Dem.
20	4	4	4	4	4	0	4	0
52	4	0	1	0	1	4	3	4

Ein Gemisch aus annähernd gleichen Teilen je einer Einsporkultur beider Rassen wurde auf einer Linie von Michigan Amber vermehrt, die für beide Rassen anscheinend in gleicher Weise hoch anfällig ist. Die Uredosporen wurden in der üblichen Weise in 0,1 % Agar mit Wattepinsel auf die Keimpflanzen übertragen.

Bei Beginn des Versuches, Ende Mai 1959, ergab die erste Prüfung der drei vermehrten Mischkulturen folgendes erwartetes Infektionsbild:

Nr.	Mal.	Car.	Brev.	Webst.	Lor.	Medit.	Huss.	Dem.
I	4	4 + 0	2	4	3	3 — 4	4	3 — 4
II	4	3	3	4	3	3	4	1 — 2
III	4	4 —	2 — 3	4	2	4	4	1 — 2

Von diesen Mischkulturen wurden je 4 Einsporkulturen hergestellt, vermehrt und Anfang August getestet. 8 Einsporlinien gehörten der Rasse 52, 4 der Rasse 20 an. Sowohl die Rassengemische selbst wie diese Klone wurden weiter vermehrt und in der annähernd 50. bis 60. Uredogeneration Anfang Juni 1961 erneut auf dem Testsortiment geprüft. Der Befund war sehr überraschend. Von den ursprünglichen Mischkulturen zeigten I und II ein reines Infektionsbild, wie es der Rasse 52 zukommt. Die Kultur III erwies sich nach wie vor als Mischung beider Rassen. Noch unerwarteter war das Infektionsverhalten der 12 Einsporlinien. Die 1959 der Rasse 52 zugewiesenen Linien hatten sich in keinem Falle verändert. Von den 4 als Rasse 20 identifizierten Klonen war aber nur noch einer unverändert, während 3 Klone nunmehr das Infektionsbild der Rasse 52 ergaben.

Da bei Einleitung der Versuche von einer anderen Fragestellung ausgegangen war und das ganze Material gewissermaßen nur „nebenbei" weiterkultiviert wurde, war leider versäumt worden, in der Zwischenzeit durch Kontrollimpfungen auf dem Testsortiment den Prozeß zu verfolgen, dessen Endergebnis hier vorliegt. Über die Ursachen, die zur Wandlung von drei Einsporlinien der Rasse 20 in eine Rasse 52 geführt haben, könnten daher nur Spekulationen angestellt werden. Es braucht aber hier gar nicht gleich an Mutationen, Rekombinationen u. dgl. gedacht zu werden. Sondern am nächsten liegt die Annahme, daß trotz aller Vorsichtsmaßnahmen beim Abimpfen dieser drei Einsporlinien irgendwann einmal eine Verunreinigung mit einem Biotyp 52 vorgekommen ist, der sich dann im Laufe der Zeit siegreich durchgesetzt und den alten Biotyp 20 verdrängt hat. Denn daß die Rasse 52 im Konkurrenzkampf der Rasse 20, auch auf einer scheinbar für beide Rassen hoch anfälligen Sorte, überlegen ist, beweist die Entmischung von zwei Mischkulturen zugunsten dieser Rasse. Es ist auch auffallend, daß von den acht Einsporlinien vom Typus der Rasse 52 nicht eine im Laufe der Zeit nach 20 verändert worden ist.

Solche Entmischungen zugunsten bestimmter Rassen sind von WATSON und vor allem von LOEGERING für den Schwarzrost und von IRISH für den Weizenbraunrost nachgewiesen worden.

Für auffallende Wandlungen des Rassenspektrums einer Rostart in einem größeren Anbaugebiet konnte die Selektionswirkung in Massen angebauter neuer Sorten schon mehrfach als Ursache eindeutig erkannt werden. Unter

den übrigen denkbaren Faktoren müssen zweifellos auch weniger in die Augen fallende Konkurrenzkämpfe eine Rolle spielen. Sie beruhen in ihrer Art natürlich gleichfalls auf einer Selektion jener Rassen, die sich durch weniger diffizile ökologische Ansprüche und dadurch bedingte bessere Keimung, schnellere und stärkere Fruktifikation u. ä. auszeichnen, auch wenn dies vielleicht in Bereichen liegt, die sich unseren groben Untersuchungsmethoden entziehen. Insbesondere müssen wir mit solchen Prozessen rechnen, wenn bei den Handelssorten im großen und ganzen keine wesentlichen Anfälligkeitsunterschiede gegenüber der fraglichen Rostart bestehen, wie es beim Weizenbraunrost in Deutschland der Fall ist.

Unter diesem Gesichtspunkt ist der Vergleich der obigen Befunde mit den Ergebnissen aus den Rassenprüfungen der letzten Jahre von Interesse. Die Rasse 52 trat 1955 zum erstenmal in stärkerem Umfange auf, nahm von Jahr zu Jahr zu, stellte 1958 den gleichen Anteil wie die bis dahin dominierende Rasse 17 und war 1959 eindeutig vorherrschend. Sie hat also augenscheinlich auch im Felde ihre Überlegenheit bewiesen.

Zusammenfassung

Drei Gemische aus den Rassen 52 und 20 von *Puccinia triticina* wurden im Gewächshause für 50 bis 60 Uredogenerationen auf Keimpflanzen des hoch anfälligen Michigan Amber vermehrt.

Nach dieser Zeit ergab eine Prüfung auf dem Testsortiment, daß zwei Kulturen nur noch die Rasse 52 enthielten und lediglich die dritte Kultur nach wie vor eine Mischkultur der beiden verwendeten Rassen war.

Unter zwölf Einsporlinien, die anfangs aus den Mischkulturen hergestellt wurden, gehörten acht zu Rasse 52 und vier zu Rasse 20. Nach 50 bis 60 Uredogenerationen auf Michigan Amber waren die Klone der Rasse 52 unverändert. Von den vier Klonen der Rasse 20 hatten sich dagegen drei in eine Rasse 52 verwandelt. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt.

Die Fähigkeit der einzelnen Rassen, sich in Gemischen zu vermehren, ist offensichtlich verschieden. Es ist bemerkenswert, daß die Untersuchungen zur physiologischen Spezialisierung des Weizenbraunrostes in Deutschland in den letzten Jahren eine stetige Zunahme der Rasse 52 nachgewiesen haben, die heute dominiert.

Summary

In the greenhouse, three mixtures of race 52 and race 20 of leaf rust growing on seedling plants of the susceptible Michigan Amber were transferred to the same variety for about 50—60 uredial generations.

After the continued culture it could be demonstrated that two cultures were belonging to race 52, and only the third culture was still a mixture of the two races.

In the beginning eight monospore cultures of the mixtures were belonging to race 52, and four to race 20. After about 50—60 uredial generations on Michigan Amber the race 52-cultures were unchanged, but of the four race 20-cultures three had changed to race 52. The reason for it is unknown.

Evidently the relative ability of races to multiply in mixtures is different. It is worthy of note that in studies of physiologic specialization of *Puccinia triticina* in Germnay it was observed that race 52 became predominant in the last years.

Literaturverzeichnis

IRISH, K. R., 1950: Studies on competition among physiologic races of the leaf rust of wheat. Phytopathology **40**, 871—872.

LOEGERING, W. Q., 1951: Survival of races of wheat stem rust in mixtures. Phytopathology **41**, 56—65.

VAKILI, N. G., 1959: A study of mechanism of variation of pathogenicity in wheat leaf rust (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* Eriks.). Diss. Abstr. **19**, 3103—3104.

— —, and R. M. CALDWELL, 1957: Recombination of spore color and pathogenicity between uredial clones of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology **47**, 536.

WATSON, I. A., 1942: The development of physiological races of *Puccinia graminis tritici* singly and in association with others. Proc. Linn. Soc. New South Wales **67**, 294—312.

Dendrologische Fachbücher von Gerd Krüssmann

Handbuch der Laubgehölze

Band I (Lieferung 1 bis 7): 1960. 504 Seiten und 164 Kunstdrucktafelseiten mit insgesamt 684 Abbildungen im Text und auf den Tafeln. Ganzleinen (Subskriptionspreis) DM 148,—

Band II erscheint in etwa 7 Lieferungen in vierteljährlicher Folge. Jede Lieferung umfaßt etwa 72 Textseiten und 24 Kunstdrucktafelseiten. Der ermäßigte Subskriptionspreis einer Lieferung beträgt DM 18,60. Der Subskriptionspreis erlischt mit dem Erscheinen der letzten Lieferung.

„Man freut sich als Gehölzfreund, in diesem Buch zu blättern, und staunt wiederum über die Gründlichkeit, mit der daran gearbeitet wurde. Noch mehr aber über die umfassende Sachkenntnis, die sich in der Wiedergabe des Artenreichtums der einzelnen Gattungen spiegelt, die fast durchweg gut durch Fotos oder einwandfreie graphische Darstellungen der wichtigsten Merkmale leicht zu bestimmen sind. Ein ausgezeichnetes Werk, das schon längst fällig war und dessen Anschaffung für jeden fortschrittlichen Baumschuler notwendig erscheint, aber auch allen anderen, die mit Laubgehölzen zu tun haben, anzuraten ist."

Gartenzeitung, Wien

Die Nadelgehölze

Systematische Übersicht und alphabetisches Verzeichnis mit Beschreibung und Bewertung der in Mitteleuropa winterharten Nadelgehölze einschließlich einiger nicht winterharter Arten und Formen

Eine Nadelholzkunde für die Praxis

2., neubearbeitete Auflage. 1961. 343 Seiten mit 1483 Gehölzbeschreibungen, 226 teils ganzseitigen Fotos und 193 Zeichnungen im Text und auf Tafeln. Ganzleinen DM 46,—

„Dieses Standardwerk, das in vorbildlicher Ausstattung erschien und eine streng geordnete, aber schier unübersehbare Fülle von Material bringt, wird nicht nur dem Wissenschaftler große Dienste erweisen, es ist auch für den praktisch tätigen Forstmann ein Nachschlagewerk von unschätzbarem und dauerndem Wert." *Allgemeine Forstzeitung, Wien*

Die Baumschule

Ein Handbuch für Anzucht, Vermehrung, Kultur und Absatz der Baumschulpflanzen

2., neubearbeitete Auflage. 1954. 567 Seiten mit 359 Abbildungen.

Ganzleinen DM 48,—

„Die ausführliche Behandlung der Verordnungen, Bestimmungen und Richtlinien über Anerkennung, Güteanforderungen, Verkehr mit Baumschulerzeugnissen sowie die Liste der wichtigsten Fachausdrücke in 13 verschiedenen Sprachen machen ‚Die Baumschule' zu einem wirklichen Handbuch, das für den versierten Fachmann ebenso unentbehrlich sein wird wie für den jungen Nachwuchs und dessen Lehrer." *Die Gartenbauwissenschaft*

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau

und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. Kotte
Direktor i. R. des Pflanzenschutzamtes Freiburg i. Br.

3., neubearbeitete Auflage. 1960. 386 Seiten mit 160 Textabbildungen und 8 Farbtafeln. Kartoniert DM 46,—; Ganzleinen DM 50,—

Allen, die Gemüse anbauen, sich mit der Bekämpfung und Behandlung von Krankheiten und Schädlingen an Gemüsepflanzen — sei es in der Praxis oder der einschlägigen Industrie — befassen oder im gemüsebaulichen Pflanzenschutz lehrend und beratend tätig sind, vermittelt das Buch die Kenntnisse, die zum Schutze der Kulturen vor Schädlingen aller Art als Grundlage dienen sollen. 160 zum Teil erneuerte und verbesserte, instruktive Abbildungen sowie acht neu hergestellte Farbtafeln erleichtern das Verständnis des Textes. Die für den gemüsebaulichen Pflanzenschutz heute zur Verfügung stehenden Geräte werden ebenfalls dargestellt. Für den, der tiefer in Einzelfragen eindringen will, ist der neuen Auflage erstmalig ein Verzeichnis neuerer Literatur beigefügt.

„Im neuen Kotte liegt nunmehr wieder ein repräsentatives Handbuch für den fortschrittlichen Gemüsebauer vor, das rückhaltlos empfohlen werden kann." *Pflanzenschutz*

Ebenfalls von Prof. Dr. W. Kotte *liegt vor:*

Krankheiten und Schädlinge im Obstbau

und ihre Bekämpfung

3., neubearbeitete Auflage. 1958. 536 Seiten mit 233 Abbildungen und 8 mehrfarbigen Tafeln. Ganzleinen DM 54,—

Dieses bekannte und bewährte Standardwerk des Pflanzenschutzes im Obstbau vermittelt jedem, der Obstbau treibt oder in ihm lehrend oder beratend tätig ist, einen maßgeblichen Überblick über die erforderlichen biologischen und technischen Kenntnisse, um die Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen im Obstbau mit Erfolg durchführen zu können. Es wurde den vielfachen Fortschritten und Erkenntnissen der letzten Jahre entsprechend umfassend neu bearbeitet und damit ganz den Erfordernissen der Jetztzeit angepaßt.

„Der Kotte gilt als das beste deutschsprachige Werk auf dem Gebiet der Schädlingsbekämpfung in zusammengefaßter Form. Auch die Aufmachung und Ausstattung sind erstklassig."
Der Landwirt, Bozen

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG